



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA



**GUILHERME JOSÉ PIMENTEL LOPES DE  
OLIVEIRA**

***EFEITO DA RASPAGEM COM LASER DE  
ER,CR:YSGG NAS SUPERFÍCIES RADICULARES:  
ESTUDOS IN VITRO***

ARARAQUARA

2010



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA



**GUILHERME JOSÉ PIMENTEL LOPES DE OLIVEIRA**

*EFEITO DA RASPAGEM COM LASER ER,CR:YSGG*

*NAS SUPERFÍCIES RADICULARES:ESTUDOS IN*

*VITRO*

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO PROGRAMA DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA-ÁREA DE  
PERIODONTIA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE  
ARARAQUARA, DA UNIVERSIDADE ESTADUAL  
PAULISTA PARA O TÍTULO DE MESTRE EM  
ODONTOLOGIA.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio

ARARAQUARA  
2010

Oliveira, Guilherme José Pimentel Lopes de

Efeito da raspagem com laser de ER, CR: YSGG nas superfícies radiculares: estudos in vitro / Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira.– Araraquara: [s.n.], 2010.

111 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia

Orientadora: Profa. Dra. Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio

1. Lasers 2. Raspagem dentária 3. Regeneração 4. Camada de  
esfregaço 5. Fibrina I. Título

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marley C. Chiusoli Montagnoli, CRB-8/5646

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Odontologia de Araraquara / UNESP

**Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira**

**Efeito da raspagem com laser de Er,Cr:YSGG nas superfícies radiculares:**

**Estudos in vitro**

**COMISSÃO JULGADORA**

**DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRADO**

Presidente e Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup> Rosemary Adriana Chiérici Marcantonio

2º Examinador: Prof. Dr. Márcio Zafalon Casati

3º Examinador: Prof<sup>ª</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Estela Sasso Cerri

Araraquara, 29 de março de 2010

## **Dados Curriculares**

**Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira**

**Nascimento: 29/04/1984-Maceió-AL**

**Filiação: Laroni Mathias Miranda de Oliveira**

**Joselena Maria Pimentel Lopes de Oliveira**

**2002-2006-Graduação em Odontologia na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alagoas (Foufal)**

**2007-2008-Especialização em Periodontia na Faculdade de Odontologia de Araraquara (Foar-Unesp)**

**2008-2010-Curso de Pós-Graduação em Odontologia - Nível de Mestrado, Área de Concentração: Periodontia - Faculdade de Odontologia de Araraquara (Foar-Unesp)**

Epígrafe

*“Quero desejar, antes do fim,  
pra mim e os meus amigos,  
muito amor e tudo mais;  
que fiquem sempre jovens  
e tenham as mãos limpas  
e aprendam o delírio com coisas reais.”*

*Belchior*

## Dedicatória

### A **Deus**

Por ter permitido que eu estivesse pronto para as oportunidades que apareceram na minha vida, pela capacidade intelectual necessária para que eu realizasse esse sonho e pela família maravilhosa que eu tenho.

### Aos meus pais **Laroni e Joselena**

Pela força de trabalho que possibilitou que eu tivesse uma boa educação, e principalmente ao amor, carinho e harmonia no lar que eu cresci e aprendi a ser o homem que eu sou. Cada página desse trabalho tem um pouco do suor de vocês dois.

### Ao meu irmão **Luiz Antônio**

Pela fraternidade, companheirismo, e por ter compartilhado comigo momentos bons e ruins em nossa história.

### A minha **família**

Ena, Dirsom, Madalena, Trajano, Siomara, Edilene, Emilia e Marconi (meu querido padrinho) e Alexandre pela torcida para que eu realizasse esse sonho e pelo auxílio nos momentos mais difíceis que eu tive em Araraquara.

A minha namorada **Mariana**

Pelo companheirismo e infinita compreensão aceitando com grande doçura momentos de solidão que tenho proporcionado a ela, e percebendo que o sacrifício da distância é para um bem maior.

Aos meus irmãos de Araraquara **Lucas, João e Marquinhos (Popotinha)**

Aos ensinamentos, companhia e amizade. Vocês representam a minha família, sem vocês eu não conseguiria suportar a solidão.

A minha orientadora **Adriana Marcantonio**

Pela paciência com uma pessoa que precisou aprender muita coisa e ainda precisar aprender tantas outras, e principalmente, pela humanidade com a qual você me tratou nesses anos, fazendo por mim coisas que só meus pais fariam.



## **Agradecimentos Especiais**

Ao professor **José Eduardo Cezar Sampaio**, pela primeira oportunidade que eu tive em Araraquara, por ter confiado em mim como sendo estagiário da clínica de Periodontia, e dessa forma, ter iniciado a minha história na Faculdade de Odontologia de Araraquara. Agradeço também pela posterior amizade e pela ajuda nos experimentos desse trabalho.

Ao professores **da Disciplina de Periodontia da FOUFAL** em especial ao professor **Amaro Carlos Júnior**, pelos conhecimentos que obtive na disciplina de Periodontia durante a minha graduação na Universidade Federal de Alagoas, onde eu aprendi a amar essa fascinante ciência.

Aos professores **José Ivo Limeira dos Reis** e **Lucineide de Melo Santos**, pela orientação durante a iniciação científica e os conselhos e carinho que me transmitem até hoje.

A **Chaine Pavone**. Orgulho-me da grande amizade construída entre nós, toda vez que um dia eu me lembrar dos tempos de pós-graduação, lembrarei das boas risadas e situações complicadas pelas quais tivemos que passar.

Aos grandes professores: **Humberto (Betão)**, **Rubens (Rubão)**, **Rafael Faeda (Peludinho)**, **Rafael Calixto (Finha)**, **Darlon**, **Adrianinho**, **Renatinho**, **Maurício (Chicó)** pela excelente companhia e amizade.

## **Agradecimentos**

À Faculdade de Odontologia de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, na pessoa de seu Diretor **Prof. Dr. José Claudio Martins Segala** e sua Vice-Diretora, **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andréia Affonso Barretto Montandon**, pelas condições para realização desta pesquisa.

À Coordenadora do curso de Pós-Graduação em Odontologia, **Prof. Dr. Joni Augusto Cirelli** pela dedicação, competência e esforço empreendidos na realização deste curso.

Aos docentes da disciplina de Periodontia: **Silvana Regina Perez Orrico, José Eduardo Cezar Sampaio, Adriana Marcantonio, Élcio Marcantonio Júnior, Carlos Rossa Júnior, Joni Augusto Cirelli**, pelos conhecimentos transmitidos durante o curso de especialização e de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, **CAPES**, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos colegas do curso de mestrado e do doutorado.

Aos Funcionários do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia: **Regina Lúcia, Claudinha, Zezé, Dona Maria do Rosário e Ester** pelo agradável convívio diário.

A **Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Alagoas (FOUFAL)** por proporcionar a excelente formação profissional e pessoal.

Aos meus grandes amigos de Maceió: **Eduardo Jatobá, João Gustavo, Rafael Bertoldo, Sheyla, Eduardo Moreno, Watson, George, Daniel, Ackio, Perolina, Clyvis e Geraldo**, pelo grande incentivo e amizade que todos vocês me deram durante os anos de graduação.

## SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas	11
Lista de Figuras	13
Resumo	16
Abstract	19
1)INTRODUÇÃO	22
2)PROPOSIÇÃO	25
3)REVISÃO DE LITERATURA	26
4)EXPERIMENTO 1	38
5)EXPERIMENTO 2	51
6)EXPERIMENTO 3	64
7)DISCUSSÃO	78
8)CONCLUSÃO	88
9) REFERÊNCIAS	89
10) ANEXOS	102

## Lista de Abreviaturas

**Laser-** Light Amplification by Estimulated Emission of Radiation

**CO<sub>2</sub>**- Dióxido de carbono

**Er:YAG-** Erbium: Yttrium-Áluminum-Garnet

**Nd:YAG-** Neodímio: Yttrium-Áluminum-Garnet

**Er,Cr:YSGG-** Erbium, Chromium: Yttrium-Scandium-Gallium-Garnet

**LILT** -Low-Intensity Laser Treatment

**HILT** -High-Intensity Laser Treatment

**HeNe-** Hélio-Neonio

**GaAs-**Gálio-Arsênio

**InGaAsP-**Índio-Gálio-Arsênio-Fosfato

**ArF-**Argônio Fluor

**XeCl-** Cloreto de Xenônio

**Ho:YAG-**Holmium:Yttrium-Áluminum-Garnet

**µm-** Micrometro

**FDA-** Food and drug administration

**J/cm<sup>2</sup>**-Joule/centímetro quadrado

**mJ-**milijoule

**MEV-** Microscópio eletrônico de varredura

**µs-**Microsegundo

**W-** Watt

**°C-**Grau Celsius

**EDTA-** Ácido Etileno Diamino Tetracético

**NaOCl** –Hipoclorito de sódio

**Hz-** Hertz

**EDX-** Energia por Dispersão de Raio X

**ml/s-** Mililitros/segundo

**mm-** milímetro

**IL-1 $\beta$** -Interleucina 1 Beta

**PBS-** Solução tampão fosfatado

**pH-** Potencial de hidrogênio

**AES-** Adesão de elementos sanguíneos

**MSR-** Morfologia da superfície radicular

**ml-** Mililitro

**M-** Mol

**kV-** Kilovolts

**HMDS-** Hexametidisilazane

**$\mu$ l-** Microlitro

**RAR-** Raspagem e alisamento radicular

**Ra-** Rugosidade de superfície

## Lista de Figuras

- Figura 1**-Grupo 1 (RAR/Adesão de sangue). Superfície radicular recoberta por uma densa rede de fibrina com presença de células sanguíneas (*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000)\_\_\_\_\_46
- Figura 2**-Grupo 2 (Laser Er,Cr:YSGG/Adesão de sangue). Superfície radicular recoberta por uma densa rede de fibrina com presença de células sanguíneas aprisionadas (*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000)\_\_\_\_\_47
- Figura 3**-Grupo 3 (RAR + Laser Er,Cr:YSGG/ Adesão de sangue). Presença de células sanguíneas aprisionadas numa densa rede de fibrina na superfície radicular (*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000)\_\_\_\_\_47
- Figura 4**-Grupo 1 (RAR/ Análise morfológica). Superfície radicular plana e regular, com túbulos dentinários ocluídos e com presença de *smear layer* (*Score* 1) (bar:10µm; aumento original: X 1500)\_\_\_\_\_49
- Figura 5**-Grupo 2 (Laser Er,Cr:YSGG/ Análise morfológica). Superfície radicular irregular com presença de microrugosidades, túbulos dentinários ocluídos e ausência de *smear layer* (*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 1500)\_\_\_\_49
- Figura 6**-Grupo 3 (RAR + Laser Er,Cr:YSGG / Análise morfológica). Superfície radicular irregular com microrugosidades, túbulos dentinários abertos e com ausência de *smear layer* (*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 1500)\_\_\_\_50
- Figura 7**-Esquema de desgaste dos dentes\_\_\_\_\_52
- Figura 8**- Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 30°\_\_\_\_\_53
- Figura 9**- Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 45°\_\_\_\_\_54

<b><u>Figura 10-</u></b> Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 60°	54
<b><u>Figura 11-</u></b> Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 90°	54
<b><u>Figura 12-</u></b> Esquema de leitura do desgaste da superfície dental	57
<b><u>Figura 13-</u></b> Avaliação do desgaste promovido pelo laser de Er,Cr:YSGG irradiado com ângulo de 30°	61
<b><u>Figura 14-</u></b> Avaliação do desgaste promovido pela raspagem manual	61
<b><u>Figura 15-</u></b> Avaliação do desgaste promovido pelo laser de Er,Cr:YSGG irradiado com ângulo de 45°	62
<b><u>Figura 16-</u></b> Avaliação do desgaste promovido pelo laser de Er,Cr:YSGG irradiado com ângulo de 60°	62
<b><u>Figura 17-</u></b> Avaliação do desgaste promovido pelo laser de Er,Cr:YSGG irradiado com ângulo de 90°	63
<b><u>Figura 18-</u></b> Grupo 1 (Laser Er,Cr:YSGG-30°/Adesão de sangue)-Superfície radicular sem adesão de elementos sanguíneos ( <i>Score</i> 0) (bar:10µm; aumento original: X 2000)	72
<b><u>Figura 19-</u></b> Grupo 2 (Laser Er,Cr:YSGG-45°/Adesão de sangue)- Superfície radicular recoberta por uma densa rede de fibrina com células sanguíneas aprisionadas ( <i>Score</i> 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000)	73
<b><u>Figura 20-</u></b> Grupo 3 ( Laser Er,Cr:YSGG-60°/ Adesão de sangue)- Superfície radicular recoberta por células sanguíneas aprisionadas por uma densa rede de fibrina ( <i>Score</i> 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000)	73



**Figura 21-** Grupo 4 (Laser Er,Cr:YSGG-90°/Adesão de sangue)- Superfície radicular com ausência de adesão de células sanguíneas ou fibrina (*Score 0*) (bar:10µm; aumento original: X 2000)\_\_\_\_\_74

**Figura 22 -** Grupo 1 (Laser Er,Cr:YSGG- 30°/Análise morfológica)- Superfície radicular irregular, com presença de microirregularidades com presença de ilhas de cimento intactas (*Score 2*) (bar:10µm; aumento original: X 2000)\_\_\_\_\_76

**Figura 23-** Grupo 2 ( Laser Er,Cr:YSGG-45°/ Análise morfológica)-Superfície radicular irregular, com presença de microirregularidades, com ausência de *smear layer* com túbulos dentinários parcialmente abertos(*Score 3*) (bar:10µm; aumento original: X 2000)\_\_\_\_\_76

**Figura 24-** Grupo 3 (Laser Er,Cr:YSGG-60°/Análise morfológica)- Superfície radicular irregular e rugosa, com ausência de *smear layer* e com túbulos dentinários parcialmente ocluídos (*Score 3*) (bar:10µm; aumento original: X 2000)\_\_\_\_\_77

**Figura 25-** Grupo 4 (Laser Er,Cr:YSGG-90°/Análise morfológica)-Superfície radicular irregular, com presença de microirregularidades com ausência de *smear layer* e com túbulos dentinários abertos (*Score 3*) (bar:10µm; aumento original: X 2000)\_\_\_\_\_77

OLIVEIRA,GJPL. Efeito da raspagem com laser de Er,Cr:YSGG nas superfícies radiculares: estudos *in vitro*. [Dissertação de Mestrado]- Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP;2010.

## **Resumo**

Foram utilizados 60 dentes humanos nessa pesquisa. No primeiro experimento, 15 dentes extraídos por doença periodontal foram selecionados para avaliar a influência da irradiação com laser de Er,Cr: YSGG sobre a morfologia e adesão de células sanguíneas sobre as superfícies radiculares. As 60 amostras provenientes desses dentes foram divididos em 3 grupos de acordo com o tipo de tratamento aplicado: Grupo 1- RAR; Grupo 2- Irradiação com laser de Er,Cr: YSGG; Grupo 3- RAR e irradiação com o laser de Er,Cr: YSGG. 10 amostras de cada grupo foram avaliados quanto a adesão de elementos sanguíneos, e as outras 10 amostras foram avaliados quanto a morfologia da superfície radicular por MEV. Os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram utilizados para avaliar os resultados. Em relação à adesão de elementos sanguíneos, este estudo não demonstrou diferenças estatísticas entre os grupos ( $p=0.359$ ), a análise morfológica demonstrou que as superfícies radiculares irradiadas com o laser de Er-Cr:YSGG foram mais rugosas que as do grupo controle (G2-G1:  $p=0.0003$  e G3-G1:  $p=0.0003$ ). No segundo experimento, 20 dentes foram utilizados para avaliar a influência do ângulo de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG sobre a rugosidade e o desgaste das superfícies radiculares. Cada face proximal foi

dividida em 3 áreas, sendo que a área superior foi tratada com raspagem e alisamento radicular, a área média não foi submetida a nenhum tipo de tratamento e a área inferior foi irradiada com o laser de Er,Cr:YSGG. Os dentes foram divididos em 4 grupos ,com 5 dentes cada, a depender da angulação da aplicação da irradiação do laser de Er,Cr:YSGG na área ( 30°, 45°, 60°, 90°). A rugosidade das áreas foram avaliadas através de um rugosímetro e posteriormente os dentes foram submetidos a processamento histológico convencional e as lâminas obtidas foram analisadas em microscópio óptico onde foi avaliado o desgaste no tecido dentário. Os testes de ANOVA e de Tukey foram utilizados para analisar os resultados. Todas as regiões que foram irradiadas com o laser apresentaram-se mais rugosas que as amostras que foram raspadas e alisadas com instrumentos manuais ( $p \leq 0.05$ ). As amostras irradiadas com laser com ângulo de trabalho de 90° apresentaram-se mais rugosas que as amostras irradiadas com laser na angulação de 30° e com 45° ( $p \leq 0.05$ ), e as amostras irradiadas com laser na angulação de 60° apresentaram-se mais rugosas que as amostras irradiadas com o laser na angulação de 30° ( $p \leq 0.05$ ). O grupo que foi irradiado com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de trabalho de 30° apresentou o menor desgaste em relação a todos os outros tratamentos ( $p < 0.01$ ). A raspagem manual provocou desgastes semelhante aos grupos irradiados com laser de Er,Cr:YSGG com ângulos de trabalho de 45°, 60° e de 90° ( $p \geq 0.05$ ). No terceiro experimento, 20 dentes extraídos por doença periodontal foram utilizados para avaliar a influência do ângulo de irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG sobre a morfologia e adesão de elementos sanguíneos nas superfícies radiculares irradiadas. Os 80 espécimes

provenientes dos dentes foram divididos em 4 grupos de acordo com o ângulo de irradiação utilizado ( 30°,45°,60°,90°). 10 amostras de cada grupo foram avaliadas quanto a adesão de elementos sanguíneos, e as outras 10 amostras foram avaliadas quanto a morfologia da superfície radicular por MEV. Os testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney foram utilizados para avaliar os resultados. As superfícies radiculares irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 45° e 60° apresentaram maior adesão de elementos sanguíneos que o grupo onde o laser de Er,Cr:YSGG foi irradiado com ângulo de 30° e 90° (G2-G1: p=0.0007 ; G3-G1: p=0.0025; G2-G4: p=0.0041 e G3-G4: p=0.0025). As amostras irradiadas com ângulo de 30° apresentaram-se menos rugosas e afetadas pela irradiação com laser de Er,Cr:YSGG, que os grupos que foram irradiados com ângulo de 45°, 60° e 90°. (G2-G1:p=0.008; G3-G1: p=0.02; G4-G1: p=0.008). Concluiu-se que a irradiação com laser de Er,Cr:YSGG promoveu uma maior rugosidade nas superfícies radiculares em relação ao tratamento de raspagem e alisamento radicular, porém esse fato não interferiu negativamente na adesão de elementos sanguíneos. Irradiações com ângulos iguais ou menores que 30° promovem uma intervenção mais conservadora a superfície radicular.

Palavras Chaves: Lasers; raspagem dentária; regeneração; camada de esfregaço; fibrina.

OLIVEIRA, GJPL. Effect of Er,Cr:YSGG irradiation on root surfaces: an in vitro study. [Dissertação de Mestrado] - Araraquara; Faculdade de Odontologia da UNESP;2010.

## **Abstract**

60 human teeth were used in that research. In the first experiment, 15 extracted teeth for periodontal disease were selected to evaluate the effect of Er,Cr:YSGG irradiation on root surfaces for adhesion of blood components and morphology. 60 root surface specimens were obtained by selecting four from each tooth. Samples were divided into three groups of 20 each, according to treatments. Group 1 (G1) was treated by scaling and root planing (SRP), Group 2 (G2) was irradiated by Er,Cr:YSGG laser and Group 3 (G3) was treated by SRP and Er,Cr:YSGG laser irradiation. Blood was placed on each of 10 specimens from each of the three groups, to evaluate adhesion of blood components to the root surfaces. A morphological analysis was made of the root surfaces of the other 10 specimens from each group by scanning electron microscope (SEM). Statistical processing was done with the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. No statistical differences for adhesion of blood components to root surfaces were found between the groups ( $p = 0.359$ ). However, morphological analysis disclosed that all root surfaces irradiated by Er,Cr:YSGG laser (100%) were rougher than surfaces that were not irradiated (G1-G2:  $p = 0.0003$  and G1-G3:  $p = 0.0003$ ). In the second experiment, 20 teeth were used to evaluate the effect of the working tip angulations on root roughness and substance removal using Er,Cr:YSGG

radiation. The distal and mesial surfaces of each tooth was divided in 3 areas. The upper area was treated with scaling and root planing. The medium area was not submitted to any treatment and the lower area was irradiated with Er,Cr:YSGG laser. The teeth were divided in 4 groups, with 5 teeth each depending on the working tip angulations using Er,Cr:YSGG at the lower area (30°, 45°, 60°, 90°). The roughness surfaces were evaluated by a profilometer, and the root substance removal was evaluated by histometry. Statistical processing was done with the ANOVA and Tukey tests. The area irradiated with the Er,Cr:YSGG was more rougher than those that were scaled with manual cures (p≤0.05). The areas irradiated with working tip angulation of 90° were rougher than the areas irradiated with working tip angulations of 30° and 45° (p≤0.05), and the areas irradiated with working tip angulation of 60° were rougher than the areas irradiated with working tip angulations of 30° (p≤0.05). The group that was irradiated with Er,Cr:YSGG with working tip angulation of 30° presented the lower root substance removal in relation to all other groups (p<0.01). The scaling and root planing promotes comparable root substance removal to the groups irradiated with working tip angulation of 45°, 60° and 90° (p≥0.05). In the third experiment, 20 extracted teeth for periodontal disease were selected to evaluate the effect of the working tip angulations using Er,Cr:YSGG laser on root surfaces for adhesion of blood components and morphology. 80 root surface specimens were obtained by selecting four from each tooth. Samples were divided into 4 groups of 20 each, according to the working tip angulations of Er,Cr:YSGG (30°,45°,60°,90°). Blood was placed on each of 10 specimens from each of the

three groups, to evaluate adhesion of blood components to the root surfaces. A morphological analysis was made of the root surfaces of the other 10 specimens from each group by scanning electron microscope (SEM). Statistical processing was done with the Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. The samples irradiated with working tip angulations of 45° and 60° presented better adhesion of blood components than the samples irradiated with working tip angulations (G2-G1:  $p=0.0007$  ; G3-G1:  $p=0.0025$ ; G2-G4:  $p=0.0041$  e G3-G4:  $p=0.0025$ ). The samples irradiated with working tip angulation were smoother than the others groups (G2-G1: $p=0.008$ ; G3-G1:  $p=0.02$ ; G4-G1:  $p=0.008$ ). Er,Cr:YSGG laser irradiation produced rougher root surfaces than treatment by SRP, however it did not interfere with adhesion of blood components to the root surfaces. Irradiation with working tip angulation of 30° promotes a more conservative intervention on root surfaces.

Key-Words: Lasers; scaling and root planning; regeneration, smear layer; fibrin clot.

## **Introdução**

O tratamento da doença Periodontal tem como objetivo a remoção dos depósitos microbianos aderidos as superfícies radiculares, considerado agente etiológico primário da doença periodontal<sup>19,21,26,37,38,40,57,59</sup>, visando com isto estabelecer uma superfície radicular compatível com os processos de regeneração<sup>1,65,75,80</sup>.

A raspagem com instrumentos manuais é o tratamento mais consagrado para a doença periodontal, e tem demonstrado ser eficiente no controle da periodontite<sup>11,20,52,63,67-69</sup>. Porém, esse procedimento é considerado ser de difícil execução devido à complexidade da morfologia radicular e da alta dependência da habilidade manual, sensibilidade tátil e experiência do clínico para que se obtenham bons resultados<sup>1,19,38,49,77</sup>. Este procedimento apresenta ainda como desvantagens o tempo necessário para a sua execução, o desconforto, a dor e sangramento relatados pelo paciente durante a intervenção<sup>19,27,49</sup>. Adicionalmente, a raspagem manual produz *smear layer*, que prejudica a regeneração dos tecidos periodontais<sup>29,37,46,59,77</sup>.

Considerando estes aspectos, outras ferramentas que auxiliem o clínico para o tratamento das doenças periodontais têm sido propostas<sup>16,19,57</sup>. Dentre elas a utilização dos lasers de alta intensidade para o debridamento subgingival como os lasers de CO<sub>2</sub>, diodo, Nd:YAG e de Er:YAG tem merecido destaque<sup>1,5,6,16,21,38,46,60,75</sup>. Algumas vantagens para a utilização dos lasers de alta intensidade como hemostasia, remoção seletiva de cálculo dentário e efeitos antibacterianos tem sido relatadas<sup>29,40,42,52,59,61,67,77</sup>, porém existem relatos sobre a



ocorrência de efeitos térmicos adversos após a irradiação da superfície radicular com lasers de CO<sub>2</sub>, diodo e Nd:YAG<sup>2,24,38,46,74-75</sup>. Dentre os lasers de alta intensidade, o laser de Er:YAG é o que apresenta melhores resultados na remoção de cálculo associado a mínimos danos a superfície radicular. Esse fato se deve ao seu comprimento de onda (2.94µm) que é altamente absorvido pelas moléculas de água, sendo que dessa forma, o seu mecanismo de remoção tecidual ocorre devido à agitação das partículas de água que promove microexplosões na superfície radicular com mínima absorção de energia na forma de calor pelos tecidos dentários<sup>17,18,21,26,74-75</sup>. Estudos in vivo com o laser de Er:YAG foram executados e confirmaram a sua capacidade de promover bons resultados clínicos comparando com a raspagem com instrumentos manuais<sup>52,67-69</sup> e instrumentos ultrassônicos<sup>19</sup>.

Recentemente, surgiu no mercado o laser de Er,Cr:YSGG que possui características em comum com o laser de Er:YAG. A princípio, o laser de Er,Cr:YSGG surgiu com indicação em odontologia para remoção de cárie e preparo cavitário e teve sua utilização aprovada pela FDA (2002)<sup>31</sup> para procedimentos de corte e ressecção óssea. O comprimento de onda (2.78µm) faz com que esse laser possua um alto grau de absorção pela água, atuando dessa forma em superfícies mineralizadas através da vaporização da água dos tecidos mineralizados, o que reduz o aquecimento tecidual, que pode ser danoso a polpa dentária, principalmente quando utilizado com irrigação de água. O laser de Er,Cr:YSGG, quando utilizado em superfície de canais radiculares promoveu remoção de *smear layer* e abertura de túbulos dentinários<sup>32,47</sup>, e foi eficaz na instrumentação de superfícies radiculares, sendo proposto para ser utilizado como

substituto ou adjunto a raspagem e alisamento radicular com instrumentos manuais ou com ultrassom<sup>40,61,77</sup>.

Alguns fatores influenciam no rendimento dos lasers durante a irradiação dos tecidos dentários, como a potência da irradiação, taxa de repetição do pulso de irradiação, o tempo de irradiação, a irrigação com água e o ângulo de irradiação, e esses fatores podem influenciar a quantidade de cálculo removida, a rugosidade da superfície irradiada, a remoção de tecido dentário, bem como a presença de danos térmicos<sup>1,8,21,26-29,41,46-47,56-57,75,77</sup>. Os estudos de Ting et al<sup>77</sup>. (2007) e Noori et al<sup>61</sup>. (2008) demonstraram que os parâmetros ideais para a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG em superfícies radiculares com remoção adequada de cálculo dentário com mínimos danos térmicos é a utilização de 1W de potência associado a irrigação. A utilização de potências maiores<sup>22,77</sup> e a ausência de irrigação<sup>56,77</sup> têm demonstrado causar danos térmicos que podem diminuir a biocompatibilidade da superfície radicular após a irradiação<sup>24,35,46,59,75</sup>.

A influência do ângulo de irradiação foi demonstrada como sendo importante na irradiação com o laser de Er:YAG na remoção de tecido da superfície radicular (Folwaczny et al<sup>27</sup>. 2001), porém a influência desse parâmetro sobre a morfologia, a adesão de sangue, a rugosidade e o desgaste das superfícies radiculares irradiadas não foram avaliadas quanto ao laser de Er,Cr:YSGG.

## **Proposição**

### **Hipótese**

1. A utilização do laser de Er,Cr:YSGG altera a superfície radicular

### **Objetivos Específicos**

1. *ESTUDO I:* Análise da morfologia e adesão de sangue em superfícies radiculares irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG associado ou não a raspagem manual
2. *ESTUDO II:* Efeito do ângulo de irradiação no desgaste e na rugosidade de superfície radiculares irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG
3. *ESTUDO III:* Efeito do ângulo de irradiação na adesão e elementos sangüíneos e na morfologia das superfícies radiculares irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG

## **Revisão da Literatura**

Laser é uma abreviatura para a expressão inglesa *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* e seus princípios físicos foram inicialmente propostos pela teoria da emissão estimulada desenvolvida por Einstein em 1916 no entanto, foi somente em 1960, que Maiman<sup>54</sup> apresentou o primeiro aparelho de laser. Stern, Sogannaes<sup>73</sup> (1965) foram os pioneiros na utilização do laser de rubi no campo da Odontologia, despertando o interesse de muitos outros pesquisadores quanto à utilização desses aparelhos para procedimentos odontológicos.

Nos anos seguintes, surgiram os lasers a gás (CO<sub>2</sub>, HeNe), a diodo (GaAs, InGaAsP), os excímeros (ArF, XeCl) e os lasers em estado sólido (Nd:YAG, Ho:YAG, Er:YAG, Er,Cr:YSGG) que atualmente eles podem ser classificados em dois grandes grupos: os lasers de baixa intensidade ou LILT (Low-Intensity Laser Treatment) e os de alta intensidade ou HILT (High-Intensity Laser Treatment).(Aoki et al.<sup>7</sup> 2004)

Os lasers de baixa potência promovem bioestimulação, provocando efeitos sobre processos moleculares e bioquímicos, favorecendo a cicatrização e o reparo de feridas devido a ações analgésicas e antiinflamatórias, além de atuar na redução no número de bactérias por meio da fotossensibilização (Braun et al.<sup>11</sup>. 2008). Estudos em animais (Almeida et al.<sup>3</sup> 2008; Garcia et al.<sup>36</sup> 2009) e em humanos (Braun et al.<sup>11</sup> 2008; Cristodoulides et al.<sup>20</sup> 2008; Oliveira et al.<sup>63</sup> 2009; Pejic et

al.<sup>64</sup> 2009) tem confirmado efeitos benéficos dessas lasers como adjuntos ao tratamento periodontal não-cirúrgico.

Os lasers de alta intensidade estão relacionados com interações fototérmicas e processos termomecânicos nos tecidos (Israel et al.<sup>46</sup> 1997; Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006; Herrero et al.<sup>42</sup> 2009). Quando direcionada para os tecidos biológicos, a luz do laser pode ser refletida, absorvida, dissipada ou transmitida, de acordo com as características dos feixes de luz (comprimento de onda, potência, forma de emissão) e das propriedades ópticas dos tecidos, como por exemplo, o coeficiente de absorção. No entanto, para que a luz laser tenha alguma ação nos tecidos ela precisa ser absorvida e tal interação depende da presença de moléculas livres de água, proteínas, cromóforos e outros tipos de macromoléculas. No momento em que a luz é absorvida, processos fotoquímicos (bioestimulação, terapia fotodinâmica, fluorêscencia), fototérmicos (fotoablação, fotopirólise), fotomecânicos (fotodissociação-quebra estrutural do tecido) e fotoelétricos (fotoplasmólise) podem ocorrer. (Aoki et al.<sup>7</sup> 2004).

No ano de 2001, a FDA (Food and Drug Administration) (FDA<sup>30</sup>, 2001) liberou o uso do laser Er,Cr;YSGG para incisões, excisões, vaporização e coagulação em tecidos moles orais. Um ano depois (FDA<sup>31</sup>, 2002), esse laser foi liberado para procedimentos nos tecidos ósseos, tais como ressecções, osteotomias e plastias. Inúmeras pesquisas têm demonstrado as diferentes aplicações desse aparelho, seja para terapias preventivas (Freitas et al.<sup>33</sup> 2008), preparos cavitários (Gutknecht et al.<sup>39</sup> 2001; Harashima et al.<sup>41</sup> 2005; Botta et al.<sup>10</sup> 2004; Obeidi et al.<sup>62</sup> 2009), procedimentos endodônticos (Eversole et al.<sup>23</sup>

1997; Ishizaki et al.<sup>47</sup> 2004; Jahan et al.<sup>48</sup> 2006; Franzen et al.<sup>32</sup> 2009), cirurgias periodontais (Soares et al.<sup>72</sup> 2009) e periimplantares (Azzeh et al.<sup>9</sup> 2005).

Existem poucos relatos na literatura quanto a aplicação do laser de Er,Cr:YSGG sobre as superfícies radiculares, bem como a definição dos parâmetros para a utilização desse lasers para a remoção de cálculos, com mínimas alterações as superfícies radiculares. Devido a isso, a revisão a seguir engloba, além dos trabalhos em que o laser foi aplicado na superfície radicular, trabalhos de outras áreas da odontologia que avaliaram a morfologia, a ablação, a rugosidade dos tecidos dentários irradiados, além de estudos que avaliaram a biocompatibilidade de superfícies de titânio irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG.

### **Estudos com o laser de Er,Cr:YSGG**

Gutknecht et al.<sup>39</sup> (2001) avaliaram a microinfiltração marginal na interface tecido dentário e resina composta, após o preparo cavitário com o laser de Er,Cr:YSGG com a aplicação ou não de condicionamento ácido comparado com as cavidades preparadas com fresas montadas em alta-rotação. Os autores verificaram que a interface entre resina composta e o tecido dentário apresentou-se mais irregular onde foi aplicado o laser de Er,Cr:YSGG.

Hossain et al.<sup>43</sup> (2001) avaliaram a rugosidade do esmalte e da dentina irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG. Os 20 molares selecionados para o estudo em dentina foram distribuídos para serem irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG com potência de 3 W, ou para serem condicionados com ácido fosfórico a 37%.

As superfícies irradiadas com o laser apresentaram-se mais rugosas que as superfícies que foram condicionadas com ácido. A análise morfológica demonstrou que o laser promoveu uma superfície dentinária rugosa, com abertura de túbulos dentinárias e com a rara presença de *smear layer*.

Com o objetivo de avaliar a morfologia da dentina proveniente do preparo cavitário após a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG, Houssain et al.<sup>44</sup> (2003) executaram um estudo *in vitro* onde foram feitas 30 cavidades circulares com diâmetro de 3mm e profundidade de 2mm, sendo que 15 foram executadas com fresas montadas em motor de alta-rotação e 15 foram executadas com a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG com 3W de potência sob irrigação. A análise morfológica por MEV demonstrou que a dentina irradiada apresentou-se com aparência rugosa, com microirregularidades, ausência de *smear layer* e com a presença de túbulos dentinários abertos.

Ishizaki et al.<sup>47</sup> (2004) analisaram a remoção de *smear layer* e o aumento da temperatura provocado pela irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG em canais radiculares variando a potencia de irradiação ( 2W, 3W , 5W) e o diâmetro da ponta utilizada para irradiação ( 200, 330 e 400µm). A ablação e o aumento de temperatura foram diretamente proporcionais a potência de irradiação e ao diâmetro da ponta utilizada, porém esse aumento de temperatura foi abaixo do valor crítico de 8°C relacionado com danos térmicos irreversíveis aos tecidos biológicos. Os autores concluíram que a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG foi eficiente para a remoção de *smear layer* sem causar carbonização ou derretimento do tecido dentinário.

Harashima et al.<sup>41</sup> (2005) avaliaram a morfologia dos tecidos dentários após ablação proveniente do preparo de cavidades classe V com os lasers de Er:YAG e de Er,Cr:YSGG. O laser de Er,Cr:YSGG foi utilizado com 5W de potência, com 20Hz de frequência com irrigação, enquanto o laser de Er:YAG foi aplicado com 250mJ de energia com frequência de 15 Hz, também com irrigação. Foi verificado que ambos os lasers foram capazes de causar ablação no esmalte e na dentina, e proporcionaram uma superfície rugosa e irregular após a irradiação. O laser de Er,Cr:YSGG proporcionou uma superfície dentinária mais irregular com maior abertura de túbulos dentinários que o a irradiação com o laser de Er:YAG.

Matsuoka et al.<sup>55</sup> (2005) avaliaram a morfologia das paredes de canais dentinários irradiados com o laser de Er,Cr:YSGG. Os dentes foram irradiados com o laser de Er,Cr:YSGG com frequência de 20Hz, e 2W de potência. Após a irradiação, as paredes dos canais radiculares apresentaram-se rugosas, com a presença de microirregularidades, com a presença de túbulos dentinários abertos. Sinais de carbonização foram identificados em regiões onde o laser produziu canais artificiais.

Altundasar et al.<sup>4</sup> (2006) avaliaram as modificações químicas e morfológicas na dentina do canal radicular irradiada com o laser de Er,Cr:YSGG com potência de 3W, comparando seus efeitos com a irrigação com hipoclorito de sódio. A análise por MEV demonstrou que as superfícies irradiadas com o laser apresentaram-se com ausência de *smear layer*, com exposição de fibras colágenas com túbulos dentinários parcialmente cobertos, sendo que alguns sítios



apresentaram danos térmicos, como carbonização e condensação. A análise por EDX demonstrou não haver diferenças na composição iônica das superfícies irradiadas com as superfícies controle.

Jahan et al.<sup>48</sup> (2006) avaliaram a efetividade da instrumentação do canal radicular com o laser de Er,Cr:YSGG comparado com o tratamento convencional em canais curvos e atrésicos. 40 dentes permanentes humanos foram divididos em dois grupos: Grupo teste: Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com potência de 2W; Grupo controle: Instrumentação do canal radicular com limas K-File. Os autores verificaram que as superfícies irradiadas apresentaram-se com ausência de debris, ausência de *smear layer* e com túbulos dentinários abertos. Porém, partículas de debris foram verificadas no terço médio e apical do canal radicular, pois a ponta do laser não pode alcançar essas regiões.

Com o objetivo de avaliar o efeito da irradiação do laser de Er,Cr:YSGG em incisivos, Masuda et al.<sup>53</sup> (2006) utilizaram 40 dentes incisivos inferiores de 20 ratos, os 20 incisivos do lado direito foram preparados com limas K-file (controle) e os incisivos do lado esquerdo foram preparados com limas K-file e irradiados com laser de Er,Cr:YSGG (teste) com 2W de potência. A análise por MEV demonstrou que o tratamento teste promoveu uma dentina com superfície mais rugosa, com ausência de *smear layer* e com túbulos dentinários abertos, porém a análise histológica demonstrou a presença de maiores danos ao tecido dentinário proveniente do tratamento teste. Os autores concluíram que a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG foi efetiva no preparo do canal radicular sem prejudicar a erupção dentária.

Meister et al.<sup>56</sup> (2006) avaliaram a influência da água contida nos tecidos e a água da irrigação na ablação do esmalte e da dentina através da irradiação com os lasers de Er:YAG e com o laser de Er,Cr:YSGG. 192 amostras provenientes de dentes bovinos foram utilizadas nesse estudo, sendo que metades dessas amostras foram desidratadas antes do experimento. O laser de Er:YAG foi utilizado com potência de 1W em esmalte, e com 0.5 W em dentina, e o laser de Er,Cr:YSGG foi utilizado com 3W em esmalte e com 2 W em dentina. Ambos os lasers utilizaram 3 parâmetros quanto a irrigação externa (Sem irrigação; irrigação com 0.8ml/s; irrigação com 3ml/s). Foi verificado que a água contida nos tecidos influenciou apenas ablação da dentina apenas com o laser de Er:YAG, enquanto que a irrigação externa foi importante para a ablação do esmalte e da dentina com ambos os lasers.

Schwarz et al.<sup>70</sup> (2006) avaliaram a influência do laser de Er,Cr:YSGG sobre a morfologia e biocompatibilidade de superfícies de implantes de titânio, bem como o restabelecimento da biocompatibilidade de implantes contaminados. Na primeira parte do estudo, 88 discos de titânio modificados por ácidos foram utilizados, 40 implantes foram irradiados com o laser na frequência de 20Hz, outros 40 implantes foram irradiados com o laser na frequência de 25Hz, e 8 discos serviram como controle. Dentro dos grupos irradiados, 5 graus de potência foram utilizados (0.5W, 1.0W, 1.5W, 2.0W, 2.5W), e após os tratamentos os discos foram submetidos à adesão de osteoblastos. Na segunda parte do estudo, 36 discos de titânio modificados por ácido, previamente contaminados foram utilizados, sendo que 30 deles foram irradiados com o laser de Er,Cr:YSGG com

25Hz de frequência e 6 deles não foram irradiados, para servir como controle. Dentro dos discos irradiados, foram utilizados 5 graus de potencia (0.5W, 1.0W, 1.5W, 2.0W, 2.5W), e após a irradiação foi também avaliado a adesão de osteoblastos aos discos. Os autores concluíram que apesar da boa remoção de biofilme sobre os discos irradiados, o laser de Er,Cr:YSGG não foi eficaz em restabelecer a biocompatibilidade dos discos de titânio contaminados.

Ekworapoj et al.<sup>22</sup> (2007) avaliaram os efeitos da irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG na morfologia e no desgaste do tecido dentinário por MEV. 4 diferentes potencias de irradiação foram utilizados nesse estudo ( 3W, 3.5W, 4W, 4.5W), sendo que o desgaste observado foi diretamente proporcional com o aumento da potência de irradiação. As superfícies irradiadas apresentaram-se rugosas, com túbulos dentinários abertos e com ausência de *smear layer*. Porém foi verificada a presença de danos térmicos como derretimento e condensação do tecido dentinário, porém devem-se levar em conta as altas potências de irradiação que foram utilizadas nesse estudo.

Huang et al.<sup>45</sup> (2007) avaliaram a biocompatibilidade de superfícies de titânio irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG comparado com superfícies de titânio não tratadas. Foi avaliada a adesão de células semelhantes a osteoblastos e a morfologia das superfícies irradiadas. A análise morfológica revelou que as superfícies irradiadas apresentavam-se com derretimento, e a avaliação da biocompatibilidade demonstrou uma maior adesão de osteoblastos às superfícies irradiadas. Devido a isso, os autores chegaram à conclusão de que a irradiação

com o laser de Er,Cr:YSGG aumenta a biocompatibilidade das superfícies de titânio.

Schoop et al.<sup>66</sup> (2007) avaliaram o efeito da irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG sobre a morfologia da dentina do canal radicular e o seu efeito antibacteriano. 60 dentes humanos foram inoculados com bactérias (30 com *Escherichia coli* e 30 com *Enterococcus faecalis*), sendo que 10 amostras de cada grupo foram irradiadas com o laser na potência de 1.0W, outras 10 amostras foram irradiadas com o laser na potência de 1.5W e as outras amostras que não foram irradiadas serviram como controle. A análise morfológica demonstrou que a dentina irradiada apresentou-se rugosa, com abertura dos túbulos dentinários e com ausência de *smear layer* e adicionalmente, foi efetivo na redução dos microorganismos.

Ting et al.<sup>77</sup> (2007) procuraram determinar a potência apropriada do laser de Er,Cr:YSGG que leve a mínimas alterações na morfologia radicular com remoção eficiente de cálculos dentários. Foram utilizados 65 dentes no estudo, sendo que 22 dentes foram avaliados quanto a rugosidade, 8 foram utilizados para avaliação da morfologia e 35 dentes foram utilizados para avaliação da eficiência da remoção de cálculos dentários. Para cada avaliação os dentes foram divididos em 2 grupos de acordo com presença ou ausência de irrigação e divididos em 4 subgrupos de a potência do laser aplicada durante a irradiação (0.5W; 1.0W; 1.5W e 2.0W). Os autores concluíram que a aplicação do laser de Er,Cr:YSGG na potência de 1.0W e com irrigação não leva a grandes alterações na morfologia radicular e remove cálculo com eficiência aceitável.

Lee et al.<sup>51</sup> (2008) avaliaram a adesão, proliferação e diferenciação de células semelhantes a osteoblastos em discos de titânio que foram irradiados com laser de Er,Cr:YSGG e com o laser de CO<sub>2</sub>. 48 discos de titânio anodizados foram divididos em 4 grupos de acordo com o tipo de tratamento: 1) controle sem tratamento; 2) Laser de CO<sub>2</sub>; 3) Laser de Er,Cr:YSGG com potência de 1.5W; 4) Laser de Er,Cr:YSGG com potência de 2.5W. A proliferação de osteoblastos e a atividade de fosfatase alcalina foram avaliadas com 1 e 3 dias após os tratamentos. Os resultados dessa pesquisa demonstraram que ambos os tipos de laser foram eficazes na proliferação e diferenciação das células semelhantes a osteoblastos em superfícies de titânio irradiadas.

Noori et al.<sup>61</sup> (2008) compararam a morfologia de superfícies radiculares após a irradiação com o laser com as superfícies radiculares instrumentadas com ultrassom magnetoestrutivo. Para isso, foram utilizados 30 dentes com cálculo extraídos por doença periodontal, as raízes foram divididas em duas partes iguais, sendo que uma metade foi irradiada com laser de Er,Cr:YSGG com potência de 1.0 W, e a outra metade foi raspada com ultrassom magnetoestrutivo e após os tratamentos, a morfologia radicular foi avaliada por MEV. As superfícies radiculares irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG apresentaram a maior presença de crateras, porém menos trincas em relação as superfícies radiculares raspadas com ultrassom magnetoestrutivo.

O estudo de Chou et al.<sup>15</sup> (2009) teve como um dos objetivos a análise da morfologia e rugosidade da dentina após a irradiação pelo laser de Er,Cr:YSGG. Os parâmetros de potência e tempo de irradiação foram as variáveis desse estudo,

e as análises demonstraram que as amostras irradiadas apresentaram-se rugosas com túbulos dentinários abertos e com ausência de *smear layer*. Os valores de rugosidade variaram de 3.14-6.16 $\mu$ m, porém os parâmetros de irradiação não influenciaram na morfologia e na rugosidade da dentina irradiada.

Franzen et al.<sup>32</sup> (2009) avaliaram a eficácia do laser de Er,Cr:YSGG em descontaminar canais radiculares contaminados com *Enterococcus faecalis*, além de avaliar a morfologia do canal radicular após as irradiações. Foram utilizados discos de dentina provenientes de dentes extraídos por indicação ortodôntica. Os discos de dentina foram distribuídos em grupos a depender da espessura de cada disco (100 $\mu$ m, 150 $\mu$ m, 300 $\mu$ m, 500 $\mu$ m, 1000 $\mu$ m), sendo então contaminados com cepas de *Enterococcus faecalis*, e tratados com laser de Er,Cr:YSGG com 0.25W de potência. O laser de Er,Cr:YSGG foi eficaz na redução de *Enterococcus faecalis* em discos de dentina de até 500 $\mu$ m, e a superfície dentinária apresentou-se com ausência de *smear layer* com túbulos dentinários abertos.

Hakki et al.<sup>40</sup> (2009) com o propósito de avaliar a eficiência na remoção de cálculo dentário com a irradiação com laser de Er;Cr:YSGG, utilizaram 32 dentes uniradiculares que foram tratados por 1) Raspagem manual, 2) raspagem manual e tratamento com tetraciclina, 3) Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com pulso pequeno(140 $\mu$ s), 4)Irradiação com laser de Er,Cr;YSGG com pulso largo(400 $\mu$ s), e a remoção de calculo e a morfologia da superfície radicular foram avaliadas por MEV. A irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG foi eficaz na remoção de cálculo, porém as superfícies radiculares se apresentaram mais rugosas que as superfícies raspadas com instrumentos manuais, sendo que o laser com pulso largo

proporcionou o maior grau de rugosidade as superfícies radiculares. Nenhum dos tratamentos causou danos térmicos aos tecidos dentários.

Mir et al.<sup>58</sup> (2009) visualizaram o ação da água na ablação dos tecidos duros dentais causadas pela irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG e o laser de Er:YAG. Os autores dividiram a ação da água em 4 fases: 1) A água é lançada contra o tecido dentário em baixa energia com os primeiros pulsos não causando nenhum efeito abrasivo; 2) Formação de bolhas com o aumento da liberação de energia; 3) O tecido dentário é coberto com uma nuvem de vapor de água que cobre as margens da ablação; 4) O vapor de água entra em colapso contra o tecido dentário, causando um efeito aditivo no processo de ablação.

Um dos objetivos do trabalho de Silva et al.<sup>71</sup> (2009) foi o de avaliar a morfologia da dentina do canal radicular irradiada com o laser de Er,Cr:YSGG. O laser foi utilizado com três diferentes potências (0.75 W, 1.75W, 2.5W). As amostras irradiadas com o laser na potência de 0.75 apresentaram-se com poucas diferenças em relação ao grupo controle sem irradiação, em contrapartida, as amostras irradiadas com potência maiores apresentaram-se com ausência de *smear layer*, com túbulos dentinários abertos e sem sinais de danos térmicos.

Em um estudo sobre a microinfiltração apical em amostras de canais radiculares instrumentadas com o laser de Er,Cr:YSGG, Çaliskan et al.<sup>14</sup> (2010) executaram uma avaliação da morfologia da dentina irradiada. A análise por MEV demonstrou que a dentina irradiada apresentou-se rugosa, com a presença de túbulos dentinários abertos com ausência de *smear layer*.

**Estudo 1: Análise da morfologia e adesão de sangue em superfícies radiculares irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG associado ou não a raspagem manual**

**4.1 Material e métodos**

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética de pesquisa em humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara (CEP-32/08) (ANEXO 1). Foram utilizados no presente estudo 15 dentes uniradiculares ou multiradiculares íntegros, de pacientes não fumantes, extraídos por doença periodontal severa (perda de inserção de mais de um terço da raiz). Os seguintes critérios de exclusão foram determinados para os doadores desses dentes: 1) Tratado de doença periodontal nos últimos 12 meses; 2) Possuir doença sistêmica; 3) Utilização de antibióticos ou colutórios nos últimos 6 meses; 4) Utilização de antiinflamatórios nos últimos 3 meses. Os dentes foram obtidos no Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP, após Consentimento Livre e Esclarecido do paciente e assinatura de Termo de Doação pelos mesmos (ANEXO 2).

**4.1.1 Preparo das Amostras**

Após a extração, os dentes foram lavados em água destilada, para a remoção de sangue e outros depósitos e mantidos em temperatura ambiente em solução de tampão fosfatado (PBS) pH 7,0, para manter a sua hidratação até a realização do experimento.



Nos dentes selecionados, o terço cervical mesial e distal das raízes foram delimitados por dois sulcos paralelos que foram realizados com auxílio de uma broca carbide multilaminada (7664F-KG Sorensen, Barueri, SP), sendo que um dos sulcos foi feito no limite amelo-cementário e o outro 5mm apicalmente do primeiro. As áreas delimitadas pelos sulcos foram tratadas por raspagem e aplainamento radicular, ou por irradiação com laser, por um único operador treinado. Logo após, com auxílio de um disco diamantado (KG Sorensen, Barueri, SP) montado em baixa rotação com irrigação, foi realizada a secção dos dentes da seguinte forma: remoção da coroa dentária no sulco previamente realizado no limite amelo-cementário; corte longitudinal no sentido vestibulo-lingual na porção média da raiz nas faces proximais, secção longitudinal no ponto médio da face proximal no sentido corono-apical e uma secção no sulco apical no limite amelo-cementário obtendo dessa forma, 2 fragmentos na superfície mesial e 2 na superfície distal, medindo aproximadamente 1mm de espessura e com tamanho de 2mmx2mm. As 2 amostras de cada superfície foram divididos em: uma para analisar a adesão de elementos sanguíneos (AES) e a outra a morfologia da superfície radicular (MSR), totalizando 4 amostras por dente e conseqüentemente 60 amostras, que foram divididas em 3 grupos, com 20 amostras cada, a saber:

Grupo 1 (G1): Considerado como grupo controle, as amostras foram tratadas por raspagem e alisamento radicular, que consistiu no emprego de 50 movimentos de tração cérvico-oclusal por intermédio de uma cureta manual (Gracey 5-6, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA).

Grupo 2 (G2): Irradiação do laser de Er,Cr:YSGG, com comprimento de onda 2,78  $\mu\text{m}$ , 1 W de energia, frequência de 20 Hz, 10% de ar e 15% de água, durante 30 segundos com movimentos de varredura da superfície em contato com a superfície radicular, com um ângulo de 45° em relação a superfície radicular.

Grupo 3 (G3): Tratamento combinado com raspagem e alisamento radicular, que consistiu no emprego de 50 movimentos de tração cérico-oclusal por intermédio de uma cureta manual (Gracey 5-6, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) e irradiação com o laser de Er,Cr YSGG com comprimento de onda 2,78  $\mu\text{m}$ , 1 W de energia, frequência de 20 Hz, 10% de ar e 15% de água, durante 30 segundos com movimentos de varredura da superfície em contato com a superfície radicular, com um ângulo de 45° em relação a superfície radicular.

Após receberem os tratamentos propostos, as 20 amostras de cada grupo foram divididas em: 10 para avaliação da adesão de elementos sanguíneos e 10 para avaliação da morfologia da superfície radicular em microscopia eletrônica de varredura (MEV).

#### **4.1.2 Sistema De Laser**

O laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase YSGG, BIOLASE Technology, San Clemente, California, USA) foi utilizado neste estudo. Esse sistema de laser emite fótons com comprimento de onda de 2.78 $\mu\text{m}$  com duração de pulso de 140 a 200 $\mu\text{s}$  com frequência de 20Hz. A faixa de potência varia de 0 a 6 W (300mJ/Pulso) O sistema de liberação de energia consiste de um tubo de fibra óptica que termina em uma peça de mão onde é fixada uma ponta banhada com

cristal de safira onde é ajustado o spray de ar-água, a ponta utilizada foi a G4 que possui 600 $\mu$ m de diâmetro e 4mm de comprimento.

#### **4.1.3 Análise da adesão de elementos sanguíneos**

Após o tratamento das amostras, 10 ml de tecido sanguíneo foram obtidos, por meio de punção com auxílio de uma seringa e agulha descartável, da vascularização periférica de um paciente adulto, não fumante, sem comprometimento sistêmico, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, após o mesmo ter lido e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 3).

Utilizando de agulha e seringa uma gota de sangue (aproximadamente 1 ml) foi depositada sobre as amostras e mantidas por 20 minutos em câmara umidificadora. Em seguida as amostras foram lavadas 3 vezes durante 5 minutos com solução de tampão fosfatado com pH 7,0 (PBS) por meio de agitador. A seguir, as amostras foram identificadas e fixadas em solução de formaldeído 1% em solução de tampão fosfatado por 15 minutos. Após 3 lavagens de 5 minutos cada, com solução de tampão fosfatado, foram incubados por 10 minutos em 0,02M de glicina em solução de tampão fosfatado e lavadas novamente. A seguir foram fixados em 2,5% de glutaraldeído em solução de tampão fosfatado durante 30 minutos e lavadas novamente. Na seqüência, as amostras foram desidratadas em série de etanol: 25%, 50%, 75% e 95% durante 10 minutos em cada solução e lavadas 3 vezes, durante 10 minutos em etanol absoluto. Após secagem, por meio de uma máquina de ponto crítico de CO<sub>2</sub>, as amostras foram coladas em “stubs”

metálicos e mantidas em um dessecador a vácuo por 48 horas. Após esse período, as amostras foram metalizadas por "sputtering", em um aparelho Balt-Tec SCD-050, no tempo de 120 segundos. As amostras foram então levadas para análise em microscópio eletrônico de varredura (Jeol-JSM) com 20kV e foram obtidas fotomicrografias com auxílio de filme Neopan com aumentos de 1000 e 2000X.

As fotos obtidas foram analisadas por 1 examinador calibrado, experiente e cego quanto a identificação dos espécimes, o qual fez a descrição da adesão de elementos sanguíneos as superfícies radiculares utilizando de acordo com o Índice de Adesão de Elementos Sanguíneos (Theodoro et al<sup>75</sup>. 2006):

- (0) Ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas;
- (1) Escassa rede de fibrina e/ou de células sanguíneas;
- (2) Moderada quantidade de células sanguíneas e rede de fibrina mais fina com pequeno entrelaçamento;
- (3) Densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas.

#### **4.1.4 Análise da Morfologia da Superfície Radicular**

Para a análise da morfologia radicular, as amostras foram submetidas à desidratação em serie crescente de alcoóis etílicos (25%, 50%, 75%, 95% e 100%) durante 1 hora em cada solução. Após esse procedimento, as amostras foram colocadas dentro de placas de acrílico onde receberam aplicação do HMDS. Primeiramente cada orifício da placa recebeu 0,8 µL de HMDS + 0,8 µL de álcool absoluto medidos com pipeta automática (Boeco, Hamburg, Germany) onde as

amostras permaneceram durante 30 minutos. Depois de decorrido esse tempo, a solução foi retirada, e os poços foram preenchidos com 1 mL de HMDS puro, onde as amostras permaneceram por 10 minutos.

As amostras foram secas em ambiente durante 20 minutos e na seqüência, todas as dez amostras de cada grupo foram coladas em “stubs” metálicos codificados e mantidas em dessecador a vácuo durante 48 horas. Após esse período, as amostras sofreram processo de metalização por “sputtering” em um aparelho Balt-Tec SCD-050, no tempo de 120 segundos. e então foram analisadas em Microscópio Eletrônica de Varredura (Jeol-JSM) com 20kV , onde foram obtidas fotomicrografias com auxílio de filme Neopan com aumentos de 1000 e 1500X.

As fotos obtidas foram analisadas por 1 examinador calibrado, experiente e cego quanto a identificação das amostras, o qual fez a descrição morfológica da superfície utilizando um índice de análise da Morfologia da Superfície Radicular (MRS):

(1)- Superfície radicular lisa

(2)- Superfície radicular rugosa com presença de dentina e cimento intactos

(3)-Superfície radicular rugosa sem presença de dentina e cimento intactos

#### **4.1.5 Análise Estatística**

Para análise estatística foi utilizado o programa de computador Bioestat 5.0 (Belém, PA, Brasil). Para avaliar diferenças estatísticas entre os grupos quanto à adesão de elementos sanguíneos e a morfologia radicular, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ). Com a ocorrência de diferenças estatísticas entre os grupos, o teste não paramétrico de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ) foi utilizado para identificar entre quais grupos ocorreram às diferenças estatisticamente significantes.

### **4.2 Resultados**

#### **4.2.1 Análise da adesão de elementos sanguíneos**

O teste não- paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ) foi aplicado para avaliar a ocorrência de diferenças estatísticas entre os grupos quanto à adesão de elementos sanguíneos. Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p = 0.3592$ ).

Grupo 1 (RAR)- Foi observado que a maior parte das fotomicrografias (6 amostras) apresentaram o *score* 3 (Figura 1) de adesão de elementos sanguíneos, que representa um densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas, que foi seguida pelos *scores* 1 e 2 (2 amostras em cada grupo) que representam a adesão escassa de rede de fibrina e/ou de células sanguíneas e de moderada quantidade de células sanguíneas e rede de fibrina mais

fina com pequeno entrelaçamento, respectivamente. Não ocorreu amostras com *score* 0 neste grupo.(Tabela 1) .

Grupo 2 (Laser de Er,Cr:YSGG)- As amostras apresentaram maior frequência de *score* 3 (8 amostras) demonstrando uma densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas (Figura 2). As outras amostras apresentaram *score* 1 (1 amostra), com adesão de escassa rede de fibrina e/ou de células sanguíneas, e *score* 0 (1 amostra) onde não ocorreu adesão de fibrina nem de células sanguíneas.(Tabela 1)

Grupo 3 (RAR+Laser de Er,Cr:YSGG)- Os resultados demonstraram maior frequência o *score* 3 de adesão de elementos sanguíneos (5 amostras), com grande adesão de uma densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas (Figura 3), seguido pelo *score* 0 (3 amostras) onde não ocorreu adesão de elementos sanguíneos,e os *score* 1 (1 amostra) e *score* 2 (1 amostra) onde ocorreu escassa adesão de rede de fibrina e/ou de células sanguíneas e de moderada quantidade de células sanguíneas e rede de fibrina mais fina com pequeno entrelaçamento, respectivamente.(Tabela 1)

Tabela 1- Freqüência e porcentagem (%) do *score* de adesão de elementos sanguíneos entre os grupos

Scores	G1	G2	G3
0	0(0%)	1(10%)	3(30%)
1	2(20%)	1(10%)	1(10%)
2	2(20%)	0(0%)	1(10%)
3	6(60%)	8(80%)	5(50%)
<b>Total(n)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>

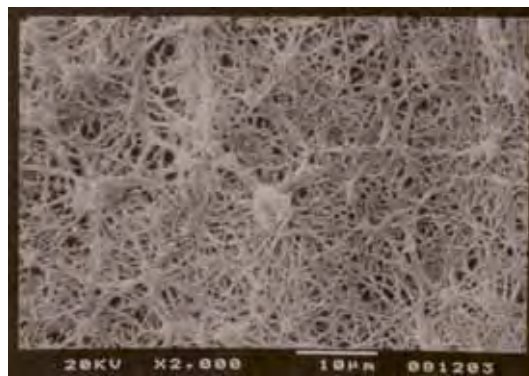


FIGURA 1- Grupo 1 (RAR/Adesão de sangue). Superfície radicular recoberta por uma densa rede de fibrina com presença de células sanguíneas (*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000).



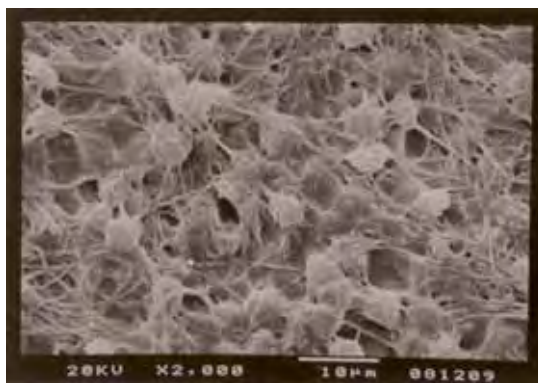


FIGURA 2- Grupo 2 (Laser Er,Cr:YSGG/Adesão de sangue). Superfície radicular recoberta por uma densa rede de fibrina com presença de células sanguíneas aprisionadas (*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

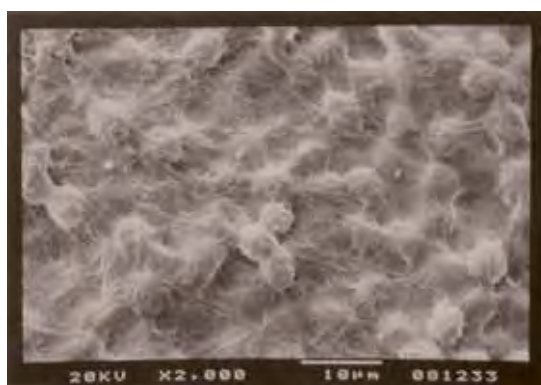


FIGURA 3- Grupo 3 (RAR + Laser Er,Cr:YSGG/ Adesão de sangue). Presença de células sanguíneas aprisionadas numa densa rede de fibrina na superfície radicular (*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

#### **4.2.2 Análise da morfologia da superfície radicular**

O teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ) também foi utilizado para a análise morfológica. O teste acusou diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0.001$ ). O

teste de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ) demonstrou que as superfícies radiculares irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG foram mais rugosas que as do grupo da raspagem com instrumentos manuais (G2-G1:  $p = 0.0007$  e G3-G1:  $p = 0.0007$ ).

Grupo 1 - As fotomicrografias demonstraram que as amostras desse grupo apresentaram-se lisas e planas em sua maioria (9 amostras), apenas uma amostra apresentou superfície irregular (Figura 4). Todas as amostras apresentaram formação de *smear layer* e ranhuras sem exposição de túbulos dentinários. (Tabela 2)

Grupo 2 e 3 -As fotomicrografias das amostras desses grupos demonstraram que todas as amostras de superfície radicular apresentaram-se altamente rugosas (Figura 5 e Figura 6), sem a presença de *smear layer*.(Tabela 2).

Tabela 2- Frequência e porcentagem (%) do *score* do índice de morfologia radicular

Score	G1	G2	G3
1	9(90%)	0(0%)	0(0%)
2	0(0%)	0(0%)	0(0%)
3	9(90%)	10(100%)	10(100%)
<b>Total(n)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>

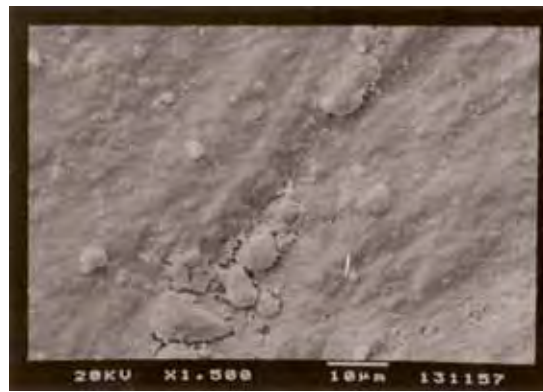


FIGURA 4- Grupo 1 (RAR/ Análise morfológica). Superfície radicular plana e regular, com túbulos dentinários ocluídos e com presença de *smear layer* (Score 1) (bar:10µm; aumento original: X 1500).

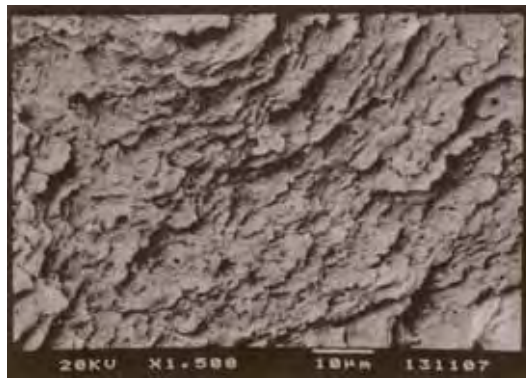


FIGURA 5- Grupo 2 (Laser Er,Cr:YSGG/ Análise morfológica). Superfície radicular irregular com presença de microrugosidades, túbulos dentinários ocluídos e ausência de *smear layer* (Score 3) (bar:10µm; aumento original: X 1500).

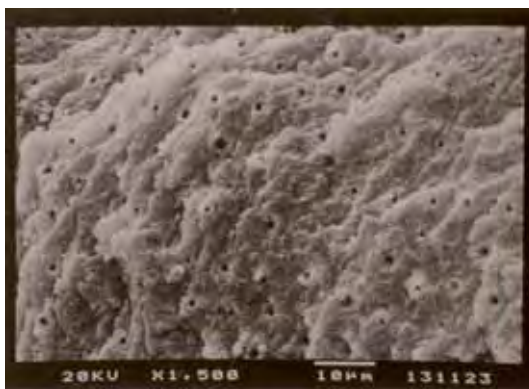


FIGURA 6- Grupo 3 (RAR + Laser Er,Cr:YSGG / Análise morfológica). Superfície radicular irregular com microrugosidades, túbulos dentinários abertos e com ausência de *smear layer* (Score 3) (bar:10µm; aumento original: X 1500).

**Estudo 2: Efeito do ângulo de irradiação no desgaste e na rugosidade de superfície radiculares irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG**

**5.1 Material e métodos**

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em pesquisa em seres humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara (CEP-02/09) (ANEXO 4). Foram utilizados no presente estudo 20 dentes uniradiculares ou multiradiculares hígidos, sem presença de restaurações, cáries ou desgastes radiculares. Estes dentes foram obtidos junto ao Banco de dentes da Faculdade de Odontologia de Araraquara. Os dentes obtidos foram lavados em água destilada, para a remoção de depósitos e mantidos em temperatura ambiente em solução de tampão fosfatado (PBS) pH 7,0.

**5.1.1 Preparo e Tratamento das Amostras**

Os dentes tiveram suas faces proximais planificadas com auxílio de uma máquina politriz com disco de granulação baixa. Logo após, as raízes dos dentes foram delimitadas com 3 sulcos executados com brocas carbide multilaminada (7664F-KG Sorensen, Barueri, SP) com auxílio de um motor de alta rotação. O primeiro sulco foi executado na altura da junção amelocementária, o segundo sulco foi executado 5 mm abaixo do primeiro e o terceiro sulco foi executado

5mm abaixo do segundo sulco, delimitando dessa forma 3 regiões na superfície radicular na face proximal de cada dente, uma coronal, uma média e uma apical.

Cada região delimitada foi submetida a um tipo de tratamento, sendo que a região coronal foi sempre tratada com raspagem e alisamento radicular, que consistiu no emprego de 50 movimentos de tração cérvico-oclusal por intermédio de uma cureta manual (Gracey 5-6, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). A região média não foi submetida a nenhum tipo de tratamento e a região apical foi irradiada com o laser de Er,Cr:YSGG (Figura 7). Os dentes foram então divididos em 4 grupos ,com 5 dentes cada, a depender do angulo da irradiação do laser sobre os mesmos:

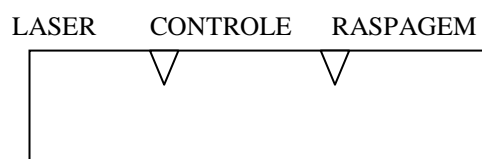


FIGURA 7- esquema de desgaste dos dentes.

No grupo 1 (G1) (n=5), as amostras receberam irradiação do laser de Er,Cr:YSGG, com comprimento de onda 2,78  $\mu\text{m}$ , 1 W de energia , freqüência de 20 Hz, 10% de ar e 15% de água, durante 30 segundos com movimentos de varredura em contato com a superfície radicular, com um ângulo de irradiação de 30° (Figura 7).

No grupo 2 (G2) (n=5) as amostras receberam irradiação do laser de Er,Cr:YSGG, com os mesmos parâmetros do grupo 1, durante 30 segundos com

movimentos de varredura em contato com a superfície radicular, com ângulo de irradiação de 45° (Figura 8).

No grupo 3 (G3) (n=5) as amostras receberam irradiação do laser de Er,Cr:YSGG com os mesmos parâmetros do grupo 1, durante 30 segundos com movimentos de varredura em contato com a superfície radicular, com ângulo de irradiação de 60° (Figura 9).

No grupo 4 (G4) (n=5) as amostras receberam irradiação do laser de Er,Cr:YSGG com os mesmos parâmetros do grupo 1, durante 30 segundos com movimentos de varredura em contato com a superfície radicular, com ângulo de irradiação de 90° (Figura 10).

No Grupo 5 (G5) considerado como grupo controle, as amostras de todos os grupos foram tratadas por raspagem e alisamento radicular, que consistiu no emprego 50 movimentos de tração cervice-oclusal por intermédio de uma cureta manual (Gracey 5-6, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA).



FIGURA 8- Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 30°.

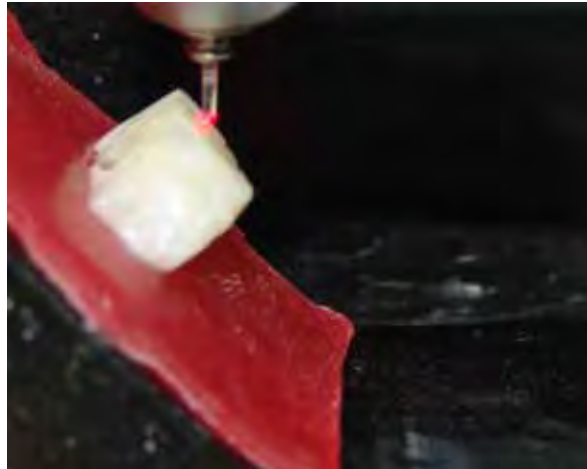


FIGURA 9- Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 45°.



FIGURA 10- Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 60°.

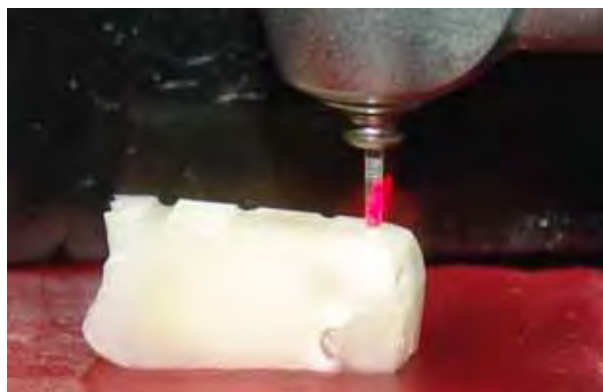


FIGURA 11: Irradiação com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 90°.



### **5.1.2 Sistema De Laser**

O laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase YSGG, BIOLASE Technology, San Clemente, California, USA) foi utilizado neste estudo. Esse sistema de laser emite fótons com comprimento de onda da  $2.78\mu\text{m}$  com duração de pulso de 140 a  $200\mu\text{s}$  com frequência de 20Hz. A faixa de potência varia de 0 a 6 W (300mJ/Pulso) O sistema de liberação de energia consiste de um tubo de fibra óptica que termina em uma peça de mão onde é fixada uma ponta banhada com cristal de safira onde pode ser ajustado o spray de ar-água, a ponta utilizada foi a G4 que possui  $600\mu\text{m}$  de diâmetro e 4mm de comprimento.

### **5.1.3 Análise da Rugosidade**

A medida da rugosidade de superfície (Ra) foi registrada sobre a superfície de cada amostra com o auxílio de um rugosímetro (Surftest SJ-401, Mitutoyo Sul Americana Ltda, Santo Amaro, SP) com precisão de 0,01 mm. Foram realizadas três leituras por região de cada espécime, em locais distintos dentro de uma área predeterminada e semelhante para todos os espécimes. Para cada leitura, a agulha do aparelho percorreu 1.5 mm sempre em uma única direção. Depois de registrados os valores de rugosidade nas três leituras, uma média aritmética para cada área foi determinada.

#### **5.1.4 Análise do Desgaste Radicular**

Após a análise da rugosidade, os dentes foram, descalcificados em solução Morse (Ácido Fórmico a 50% + Citrato de Sódio a 20%) por aproximadamente 3 meses, para serem submetidos a processamento histológico de rotina.

Em seguida realizou-se lavagem em água corrente por 24 h. e colocação das peças em solução de sulfato de sódio a 5% por 48 h., visando neutralizar o ácido. Após nova lavagem em água corrente por 24 h procedeu-se à tramitação laboratorial de rotina, com desidratação em álcool em ordem crescente de concentração até o álcool absoluto, diafanização em xilol e inclusão em parafina.

A microtomia foi realizada em micrótomo automático JUNG SUPER CUT 2065 (LEICA Instruments GmbH, Heidelberg, Germany), em que obteve-se cortes seriados com espessura de cinco micrômetros. A técnica de coloração utilizada foi a de Hematoxilina e Eosina (H/E).

De cada dente foram obtidas 9 lâminas, sendo que 3 lâminas da área superficial do bloco, 3 lâminas da área central e 3 lâminas da área profunda. Para cada lâmina tinha 4 cortes. Uma lâmina de cada região foi analisada, sendo que essa seleção foi feita através de um processo de randomização por sorteio. De cada lâmina, um dos 4 cortes foi selecionado para análise, sendo que esse corte também foi escolhido por processo de randomização por sorteio, portanto 3 cortes foram avaliadas por dente.

Os cortes selecionados para a análise foram fotografados com aumento de 500x em microscópio óptico um microscópio óptico DIASTAR (Leica Reichert & Jung Products, Germany) com objetiva para aumento de 4/100 vezes e oculares

com aumento de 10 vezes. As imagens foram registradas através de uma câmera fotográfica digital Leica Microsystems DFC-300-FX (Leica microsystem, Germany) adaptada ao microscópio óptico, e enviadas para um microcomputador. A análise histométrica foi realizada através de um software analisador de imagens (Sigma ProScan, Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA).

Para a análise histométrica uma linha paralela a superfície do tratamento controle foi adicionada a foto, e a distância dessa linha as regiões tratadas foram registradas através de 3 medidas, distando  $500\mu\text{m}$  uma da outra. Com a média aritmética dessas medidas obteve-se o valor do desgaste. O resultado de cada proximal foi a média aritmética dos 3 cortes avaliados de cada dente. (Figura 12).



FIGURA 12- Esquema de leitura do desgaste da superfície dental.

### **5.1.5 Análise Estatística**

Para análise estatística foi utilizado o programa de computador Bioestat 5.0 (Belém, PA, Brasil). Os dados fornecidos pelas avaliações da rugosidade e do desgaste foram numéricos, e, devido a isso, o teste de normalidade de Shapiro-Wilk foi utilizado para avaliar a distribuição dos dados em relação ao teorema da distribuição central. Como os dados se distribuíram de acordo com a normalidade, testes paramétricos foram utilizados para a análise dos dados. Para avaliar diferenças estatísticas entre os grupos quanto à rugosidade e o desgaste radicular foi utilizado o teste paramétrico de ANOVA ( $p < 0.05$ ). Com a ocorrência de diferenças estatísticas entre os grupos, o teste paramétrico de Tukey ( $p < 0.05$ ) foi utilizado para identificar entre quais grupos ocorreram às diferenças estatisticamente significantes.

## **5.2 Resultados**

### **5.2.1 Rugosidade**

A tabela 3 expõe as médias e os desvios padrões dos grupos e os resultados do teste de Tukey.

Tabela 3: Média e desvio padrão da rugosidade dos grupos em micrometros

Grupo	Média	Desvio Padrão
RAR	1.91	0.52
Laser 30°	7.08 <sup>1</sup>	1.46
Laser 45°	8.39 <sup>1</sup>	1.93
Laser 60°	10.23 <sup>1,2</sup>	2.54
Laser 90°	11.06 <sup>1,2,3</sup>	2.72

<sup>1</sup>: Grupos que apresentam superfícies mais rugosas que o grupo RAR ( $p < 0.01$ )

<sup>2</sup>: Grupos que apresentaram superfícies mais rugosas que o grupo laser 30° ( $p < 0.01$ )

<sup>3</sup>: Grupos que apresentaram superfícies mais rugosas que o grupo laser 45° ( $p < 0.01$ )

Teste de Tukey

Todas as regiões que foram irradiadas com o laser apresentaram-se mais rugosas que as amostras que foram raspadas e alisadas com instrumentos manuais. Adicionalmente, as amostras irradiadas com laser na angulação de 60° apresentaram-se mais rugosas que as amostras irradiadas com o laser na angulação de 30°, e as amostras irradiadas com laser com ângulo de trabalho de 90° apresentaram-se mais rugosas que as amostras irradiadas com laser na angulação de 30° e com 45°.

### **5.2.2 Desgaste**

A tabela 4 expõe os resultados das médias e desvios padrões dos desgastes de cada grupo e os resultados do teste de Tukey.

Tabela 4: Média e desvio padrão do desgaste de cada grupo em micrometros

Grupo	Média ( $\mu\text{m}$ )	Desvio Padrão
RAR	169.83 <sup>2</sup>	24.76
Laser 30°	113,37	32.94
Laser 45°	177.60 <sup>2</sup>	26.89
Laser 60°	185.33 <sup>2</sup>	16.54
Laser 90°	191.32 <sup>2</sup>	12.38

---

<sup>2</sup>: Grupos que apresentaram superfície maior desgaste que o grupo 2 ( $p < 0.01$ )  
Teste de Tukey

O grupo que foi irradiado com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de trabalho de 30° (Figura 13) apresentou o menor desgaste em relação a todos os outros tratamentos, e essa diferença foi estatisticamente significativa ( $p < 0.01$ ). A média do desgaste aumentou gradativamente com o aumento do ângulo de irradiação, porém essas diferenças não foram confirmadas estatisticamente. Adicionalmente, o grupo que foi raspado por instrumentos manuais (Figura 14) provocou desgaste semelhante aos grupos irradiados com laser de Er,Cr:YSGG com ângulos de trabalho de 45°(Figura 15), 60°(Figura 16) e 90°(Figura 17).



FIGURA 13- Avaliação do desgaste promovido pelo laser de Er,Cr;YSGG irradiado com ângulo de 30°.

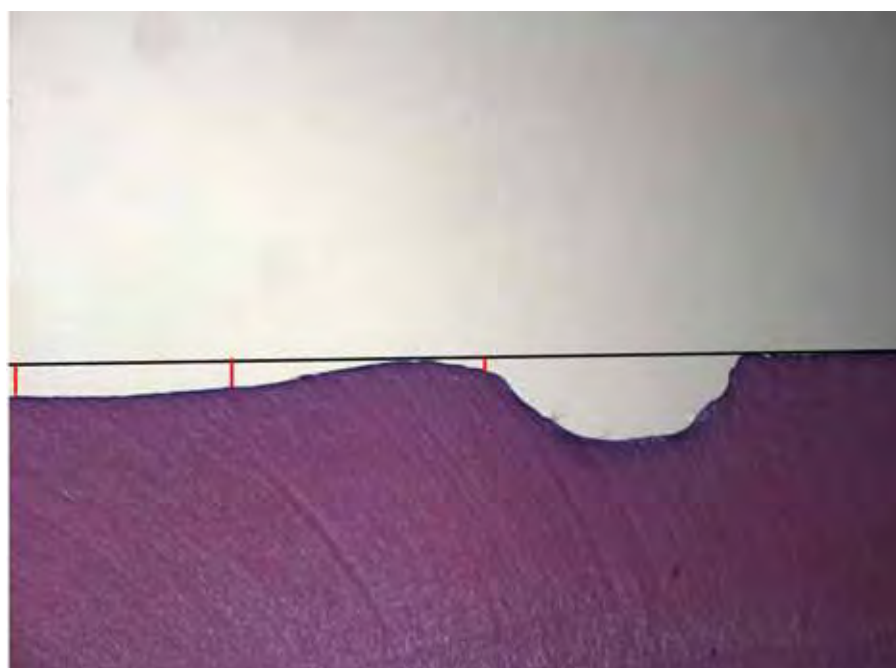


FIGURA 14- Avaliação do desgaste promovido pela raspagem manual.

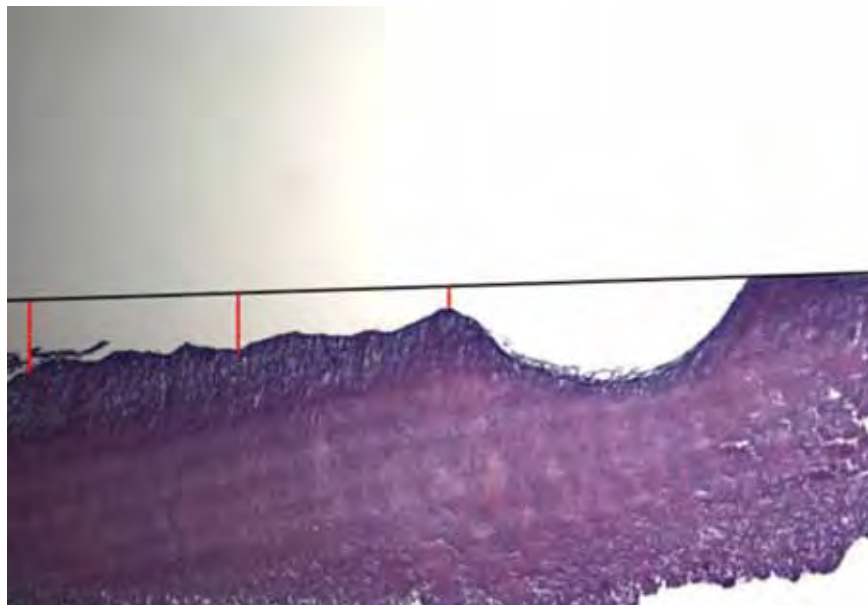


FIGURA 15- Avaliação do desgaste promovido pelo laser de Er,Cr:YSGG irradiado com ângulo de 45°.

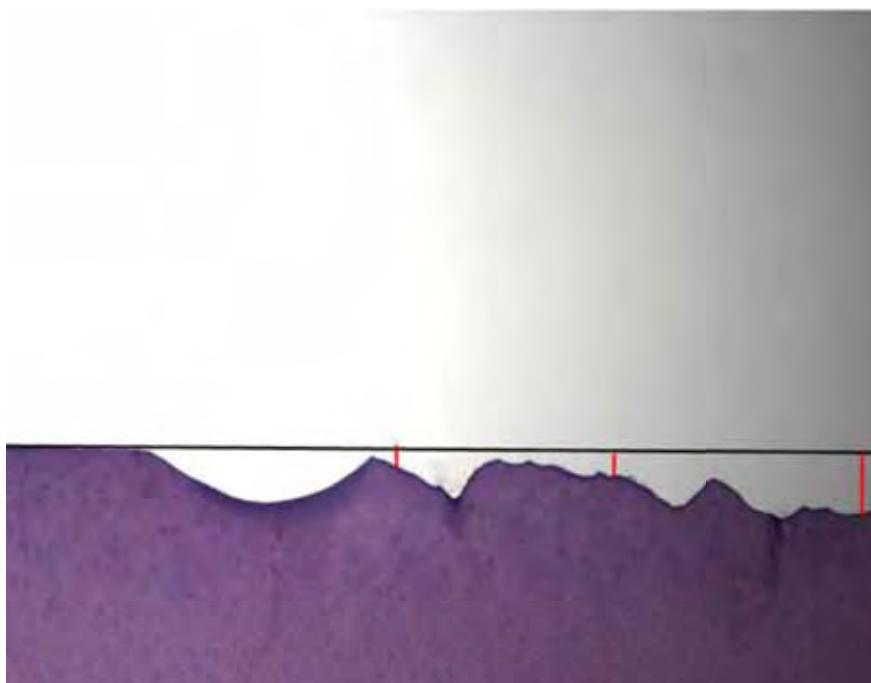


FIGURA 16- Avaliação do desgaste promovido pelo laser de Er,Cr:YSGG irradiado com ângulo de 60°.



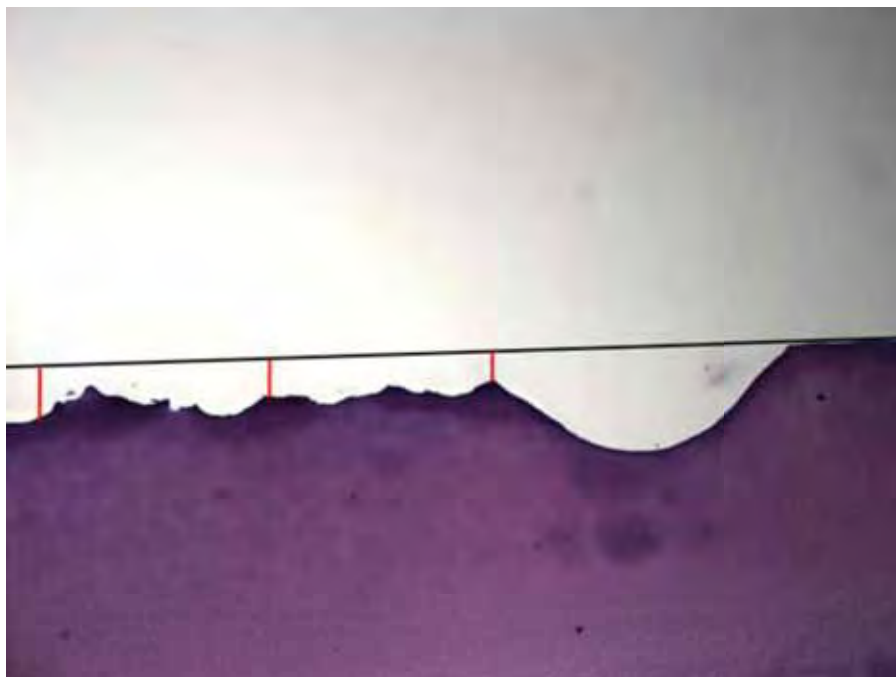


FIGURA 17- Avaliação do desgaste promovido pelo laser de Er,Cr:YSGG irradiado com ângulo de 90°.

**Estudo 3: Efeito do ângulo de irradiação no adesão e elementos  
sanguíneos e na morfologia das superfícies radiculares irradiadas  
com laser de Er,Cr:YSGG**

**6.1 Material e métodos**

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em humanos da Faculdade de Odontologia de Araraquara (CEP-32/08) (ANEXO 1). Foram utilizados no presente estudo 20 dentes uniradiculares ou multiradiculares de pacientes não fumantes, extraídos por doença periodontal severa (perda de inserção de mais de um terço da raiz). Os seguintes critérios de exclusão foram determinados para os doadores desses dentes: 1) Tratado de doença periodontal nos últimos 12 meses; 2) Possuir doença sistêmica; 3) Utilização de antibióticos ou colutórios nos últimos 6 meses; 4) Utilização de antiinflamatórios nos últimos 3 meses. Estes dentes foram obtidos no Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, UNESP, após Consentimento Livre e Esclarecido do paciente e assinatura de Termo de Doação pelos mesmos (ANEXO 2).

**6.1.1 Preparo das Amostras**

Após a extração, os dentes foram lavados em água destilada, para a remoção de sangue e outros depósitos e mantidos em temperatura ambiente em solução de tampão fosfatado (PBS) pH 7,0. Nos dentes selecionados, o terço cervical mesial e distal das raízes foram delimitados por dois sulcos paralelos com

auxílio de uma broca carbide multilaminada (7664F-KG Sorensen, Barueri, SP), sendo que um dos sulcos foi feito no limite amelo-cementário e o outro 5mm apicalmente do primeiro, na superfície radicular. As áreas delimitadas pelos sulcos foram irradiadas com laser, por um único operador. Logo após, com auxílio de um disco diamantado (KG Sorensen, Barueri, SP) montado em baixa rotação, foi realizada a secção dos dentes da seguinte forma: remoção da coroa dentária no sulco previamente realizado no limite amelo-cementário; corte longitudinal no sentido vestibulo-lingual na porção média da raiz nas faces proximais, secção longitudinal no ponto médio da face proximal no sentido corono-apical e uma secção no sulco apical no limite amelo-cementário obtendo dessa forma, 2 fragmentos na superfície mesial e 2 na superfície distal, medindo aproximadamente 1mm de espessura e com tamanho de 2mmx2mm, para analisar a adesão de elementos sanguíneos (AES) e a morfologia da superfície radicular (MSR) na mesma face radicular, totalizando 4 amostras por dente e conseqüentemente 80 amostras, que foram divididas em 4 grupos, com 20 espécimes cada, a saber:

Grupo 1 (G1): Irradiação do laser de Er,Cr:YSGG, com comprimento de onda 2,78  $\mu\text{m}$ , 1 W de energia, frequência de 20 Hz, 10% de ar e 15% de água, durante 30 segundos com movimento de varredura com a ponta em contato com a superfície radicular, com um ângulo de irradiação de 30°.

Grupo 2 (G2): Irradiação do laser de Er,Cr:YSGG, com comprimento de onda 2,78  $\mu\text{m}$ , 1 W de energia, frequência de 20 Hz, 10% de ar e 15% de água,

durante 30 segundos com movimento de varredura com a ponta em contato com a superfície radicular, com um ângulo de irradiação de 45°.

Grupo 3 (G3): Irradiação do laser de Er,Cr:YSGG, com comprimento de onda 2,78  $\mu\text{m}$ , 1 W de energia, frequência de 20 Hz, 10% de ar e 15% de água, durante 30 segundos com movimento de varredura com a ponta em contato com a superfície radicular, com um ângulo de irradiação de 60°.

Grupo 4 (G4): Irradiação do laser de Er,Cr:YSGG, com comprimento de onda 2,78  $\mu\text{m}$ , 1 W de energia, frequência de 20 Hz, 10% de ar e 15% de água, durante 30 segundos com movimento de varredura com a ponta em contato com a superfície radicular, com um ângulo de irradiação de 90°.

Após receberem os tratamentos propostos, 10 amostras de cada grupo foram submetidas à deposição de tecido sanguíneo e as outras 10 não receberam nenhum tipo de tratamento, para que se pudesse analisar a morfologia e adesão de elementos sanguíneos.

### **6.1.2 Sistema De Laser**

O laser de Er,Cr:YSGG (Waterlase YSGG, BIOLASE Technology, San Clemente, California, USA) foi utilizado neste estudo.. Esse sistema de laser emite fótons com comprimento de onda da 2.78 $\mu\text{m}$  com duração de pulso de 140 a 200 $\mu\text{s}$  com frequência de 20Hz. A faixa de potência varia de 0 a 6 W (300mJ/Pulso) O sistema de liberação de energia consiste de um tubo de fibra óptica que termina em uma peça de mão onde é fixada uma ponta banhada com

cristal de safira onde pode ser ajustado o spray de ar-água, a ponta utilizada foi a G4 que possui 600 $\mu$ m de diâmetro e 4mm de comprimento.

### **6.1.3 Análise da adesão de elementos sanguíneos**

Após os tratamentos propostos das amostras, foram obtidos 10 ml de tecido sanguíneo, através de punção com auxílio de uma seringa e agulha descartável, da vascularização periférica de um pacientes adulto, não fumante, sem comprometimento sistêmico, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, após o mesmo ter lido e assinado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 3).

Em todos os grupos experimentais, uma gota de sangue (aproximadamente 1 ml) foi depositada com auxílio de seringa e agulha sobre as amostras e mantidas por 20 minutos em câmara umidificadora após aplicação do sangue. Em seguida as amostras foram lavadas 3 vezes durante 5 minutos com solução de tampão fosfatado pH 7,0 (PBS) por meio de agitador. Em seguida, as amostras foram identificadas e fixadas em solução de formaldeído 1% em solução de tampão fosfatado por 15 minutos. Após 3 lavagens de 5 minutos com solução de tampão fosfatado, as amostras foram incubadas por 10 minutos em 0,02M de glicina em solução de tampão fosfatado e lavadas novamente. A seguir foram fixadas em 2,5% de gluteraldeído em solução de tampão fosfatado durante 30 minutos e lavadas novamente. Na seqüência, as amostras foram desidratadas em série de etanol: 25%, 50%, 75% e 95% durante 10 minutos em cada solução e lavadas 3 vezes, durante 10 minutos em etanol absoluto. Após secagem, por meio de uma

máquina de ponto crítico de CO<sub>2</sub>, as amostras foram coladas em stubs metálicos e mantidas em um dessecador a vácuo por 48 horas. Após esse período, as amostras foram metalizadas por "sputtering", em um aparelho Balt-Tec SCD-050, no tempo de 120 segundos. As amostras foram então levadas para análise em Microscópio Eletrônico de Varredura (Jeol-JSM) com 20kV e foram obtidas fotomicrografias com auxílio de filme Neopan com aumentos de 1000 e 2000X. A seguir, as fotos foram analisadas por 1 examinador calibrado, experiente e cego quanto a identificação das amostras, o qual fez a descrição da adesão de elementos sanguíneos as superfícies radiculares de acordo com o “Índice de Adesão de Elementos Sanguíneos”(Theodoro et al<sup>75</sup>. 2006):

- (0) Ausência de rede de fibrina e de células sanguíneas;
- (1) Escassa rede de fibrina e/ou de células sanguíneas;
- (2) Moderada quantidade de células sanguíneas e rede de fibrina mais fina com pequeno entrelaçamento;
- (3) Densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas.

#### **6.1.4 Análise da Morfologia da Superfície Radicular**

Para a análise da morfologia radicular, as amostras foram submetidas à desidratação em série crescente de alcoóis etílicos (25%, 50%, 75%, 95% e 100%) durante 1 hora em cada solução. Após esse procedimento, as amostras foram colocadas dentro de placas de acrílico onde receberam aplicação do HMDS. Primeiramente cada orifício da placa recebeu 0,8 µL de HMDS + 0,8 µL de álcool

absoluto medidos com pipeta automática (Boeco, Hamburg, Germany) onde as amostras permaneceram durante 30 minutos. Depois de decorrido esse tempo, a solução foi retirada, e os poços foram preenchidos com 1 mL de HMDS puro, onde as amostras permaneceram por 10 minutos.

As amostras foram secas em ambiente durante 20 minutos e na seqüência, todas as dez amostras de cada grupo foram coladas em stubs metálicos codificados e mantidas em dessecador a vácuo durante 48 horas. Após esse período, as amostras sofreram processo de metalização por sputtering em equipamento Balt-Tec SCD-050 durante 120 segundos e então foram analisadas em Microscópio Eletrônica de Varredura (Jeol-JSM) com 20kV , onde foram obtidas fotomicrografias com auxílio de filme Neopan com aumentos de 1000 e 2000X. A seguir, as fotos foram analisadas por 1 examinador calibrado, treinado, experiente e cego quanto a identificação dos espécimes, que executou a descrição morfológica da superfície utilizando um índice de análise da Morfologia da Superfície Radicular (MRS):

(1)-Superfície radicular lisa

(2)-Superfície radicular rugosa com presença de dentina e cemento intactos

(3)-Superfície radicular rugosa sem presença de dentina e cemento intactos

### **6.1.5 Análise Estatística**

Para análise estatística foi utilizado o programa de computador Bioestat 5.0 (Belém, PA, Brasil). Para avaliar diferenças estatísticas entre os grupos quanto à adesão de elementos sanguíneos e a morfologia radicular, foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ). Com a ocorrência de diferenças estatísticas entre os grupos, o teste não paramétrico de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ) foi utilizado para identificar entre quais grupos ocorreram às diferenças estatisticamente significantes.

## **6.2 Resultados**

### **6.2.1 Análise da adesão de elementos sanguíneos**

Grupo 1 (Laser Er,Cr:YSGG-30°)- Foi observado nesse grupo que todas as fotomicrografias (10 amostras) apresentaram o *score* 0 de adesão de elementos sanguíneos (Figura 18), onde não ocorreu adesão de fibrina nem de células sanguíneas (Tabela 5).

Grupo 2 (Laser Er,Cr:YSGG-45°)- As amostras apresentaram maior frequência de *score* 3 (8 amostras) demonstrando uma densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas (Figura 19). As outras amostras apresentaram *score* 1 (1 amostra), com adesão de escassa rede de fibrina e/ou de células sanguíneas, e *score* 0 (1 amostra) onde não ocorreu adesão de fibrina nem de células sanguíneas. (Tabela 5).



Grupo 3 (Laser Er,Cr:YSGG-60°)- Esse grupo apresentou com maior frequência o *score* 3 de adesão de elementos sanguíneos (4 amostras), com uma grande adesão de uma densa rede de fibrina com grande entrelaçamento e células sanguíneas aprisionadas (Figura 20), seguido pelos *score* 2 (3 amostras) e pelo *score* 0 (2 amostras) que representam, respectivamente, uma quantidade moderada de adesão de células sanguíneas com rede de fibrina mais fina com pequeno entrelaçamento ou a não adesão de elementos sanguíneos. Uma amostra desse grupo apresentou o *score* 1 que representa uma escassa adesão de células sanguíneas com escassa rede de fibrina. (Tabela 5).

Grupo 4 (Laser Er,Cr:YSGG-90°)-As amostras desse grupo apresentaram maior frequência de *score* 0 (8 amostras) pois não foi verificado a adesão de elementos sanguíneos nessas amostras (Figura 21). As outras amostras apresentaram *score* 2 e 3 (1 amostra cada), onde ocorreu adesão de moderada quantidade de células sanguíneas e rede de fibrina mais fina com pequeno entrelaçamento e uma grande adesão de células sanguíneas aprisionadas numa densa rede de fibrina., respectivamente (Tabela 5).

O teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ) foi utilizado para a análise de adesão de elementos sanguíneos. O teste demonstrou haver diferenças significativas entre os grupos ( $p < 0.0001$ ). O teste de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ) demonstrou que as superfícies radiculares irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de 45° e 60° apresentaram maior adesão de elementos sanguíneos que o grupo onde o laser de Er,Cr:YSGG foi irradiado com ângulo de 30° e 90° (G2-G1:  $p = 0.0007$  ; G3-G1:  $p = 0.0025$ ; G2-G4:  $p = 0.0041$  e G3-G4:  $p = 0.0025$ ).

Tabela 5- Frequência e porcentagem (%) do *score* de adesão de elementos sanguíneos entre os grupos

Scores	G1	G2	G3	G4
0	10(100%)	1(10%)	2(20%)	8(80%)
1	0(0%)	1(10%)	1(10%)	0(0%)
2	0(0%)	0(0%)	3(30%)	1(10%)
3	0(0%)	8(80%)	4(40%)	1(10%)
<b>Total(n)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>

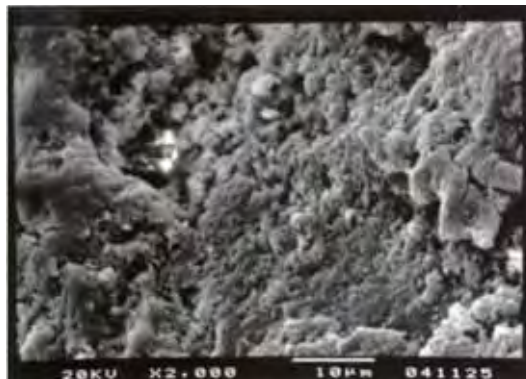


FIGURA 18- Grupo 1( Laser Er,Cr:YSGG-30°/Adesão de sangue)-Superfície radicular sem adesão de elementos sanguíneos (*Score* 0) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

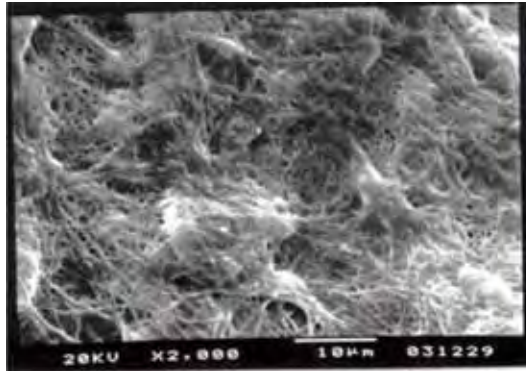


FIGURA 19- Grupo 2 (Laser Er,Cr:YSGG-45%/Adesão de sangue)- Superfície radicular recoberta por uma densa rede de fibrina com células sanguíneas aprisionadas (*Score 3*) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

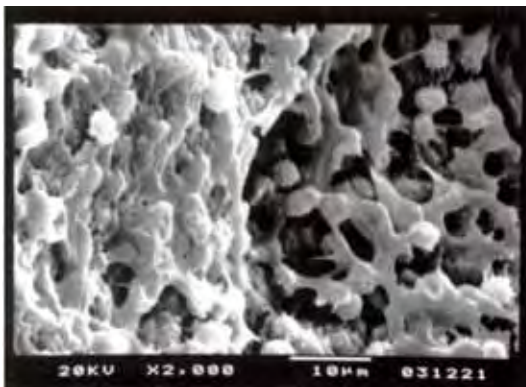


FIGURA 20-Grupo 3( Laser Er,Cr:YSGG-60%/ Adesão de sangue)- Superfície radicular recoberta por células sanguíneas aprisionadas por uma densa rede de fibrina (*Score 3*) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

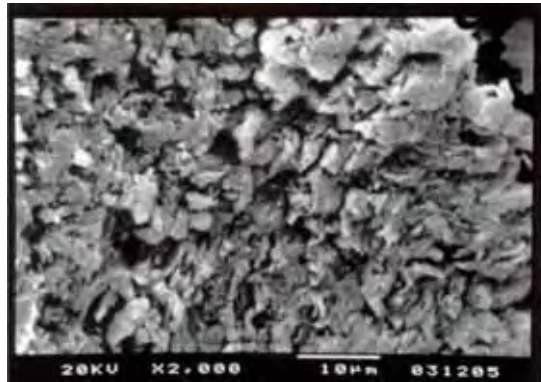


FIGURA 21-Grupo 4(Laser Er,Cr:YSGG-90°/Adesão de sangue)- Superfície radicular com ausência de adesão de células sanguíneas ou fibrina (*Score* 0) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

### **6.2.2 Análise da morfologia das superfícies radiculares**

Grupo 1 (Laser Er,Cr:YSGG-30°) - 7 amostras (70%) desse grupo apresentaram-se rugosas com presença de ilhas de cimento e dentina intactos (Figura 22), que são locais onde o laser não provocou desgaste, nas outras 3 amostras (30 %), a superfície radicular apresentou-se rugosa sem a presença de regiões não desgastadas pela irradiação(Tabela 6).

Grupo 2 (Laser Er,Cr:YSGG-45°)- Todas as amostras desse grupo apresentaram-se rugosas sem a presença de dentina e/ou cimento intactos (Figura 23). Também foi verificada a presença de túbulos dentinários abertos sem a presença de *smear layer* (Tabela 6).

Grupo 3 (Laser Er,Cr:YSGG-60°)- A maioria das amostras desse grupo ( 9 amostras-90% ) apresentaram de forma semelhante as amostras do grupo 2, com a superfície rugosa, com presença de túbulos dentinários abertos com ausência de

*smear layer* (Figura 24). Uma amostra (10%) desse grupo apresentou-se rugosa com ilhas de cimento intactas (Tabela 6).

Grupo 4 (Laser Er,Cr:YSGG-90°)- Todas as amostras desse grupo apresentaram-se com grande rugosidade, sem a presença de cimento ou dentina intactos, com túbulos dentinários abertos com ausência de *smear layer* (Figura 25) (Tabela 6).

O teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0.05$ ) demonstrou que houve diferenças significativas entre os grupos ( $p = 0.0001$ ). O teste de Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ) demonstrou que as amostras irradiadas com ângulo de 30° apresentaram-se com presença de ilhas de cimento e dentina intactas superfície, menos rugosa e menos afetada pela irradiação com laser de Er,Cr:YSGG, que os grupos que foram irradiados com ângulo de 45°, 60° e 90°. (G2-G1:  $p = 0.008$ ; G3-G1:  $p = 0.02$ ; G4-G1:  $p = 0.008$ ).

Tabela 6- Frequência e porcentagem (%) do *score* do índice de morfologia radicular

Score	G1	G2	G3	G4
1	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
2	7(70%)	0(0%)	1(10%)	0(0%)
3	3(30%)	10(100%)	9(90%)	10(100%)
<b>Total(n)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>	<b>10(100%)</b>

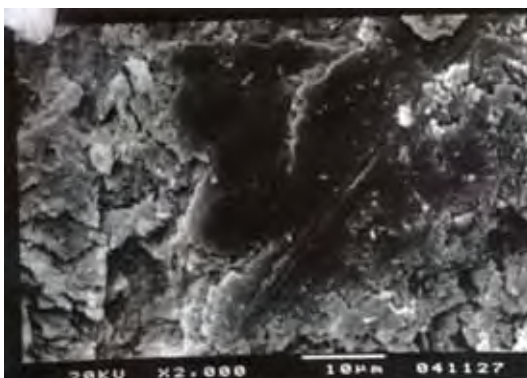


FIGURA 22 -Grupo 1 (Laser Er,Cr:YSGG- 30°/Análise morfológica)- Superfície radicular irregular, com presença de microirregularidades com presença de ilhas de cimento intactas (*Score* 2) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

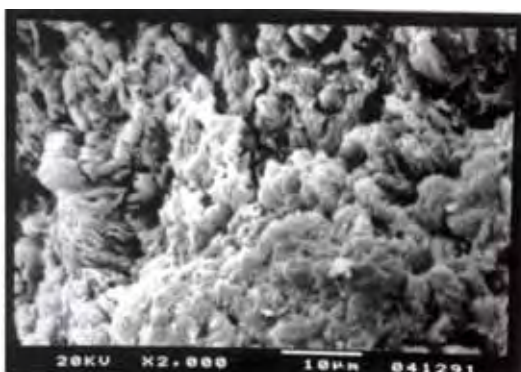


FIGURA 23- Grupo 2( Laser Er,Cr:YSGG-45°/ Análise morfológica)-Superfície radicular irregular, com presença de microirregularidades, com ausência de *smear layer* com túbulos dentinários parcialmente abertos(*Score* 3) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

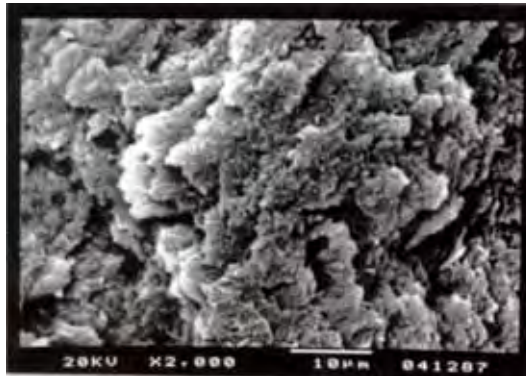


FIGURA 24- Grupo 3(Laser Er,Cr:YSGG-60°/Análise morfológica)- Superfície radicular irregular e rugosa, com ausência de *smear layer* e com túbulos dentinários parcialmente ocluídos (*Score 3*) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

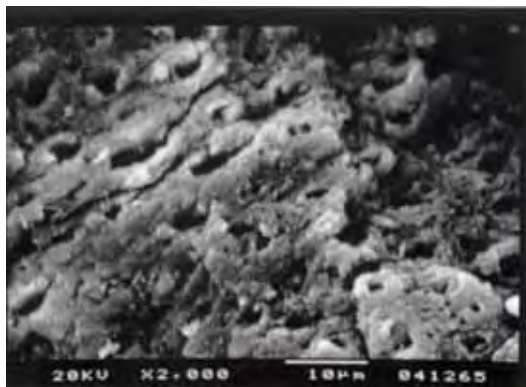


FIGURA 25- Grupo 4(Laser Er,Cr:YSGG-90°/Análise morfológica)-Superfície radicular irregular, com presença de microirregularidades com ausência de *smear layer* e com túbulos dentinários abertos (*Score 3*) (bar:10µm; aumento original: X 2000).

## Discussão

O objetivo desse trabalho foi de determinar a influência do ângulo de irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG sobre a morfologia, a adesão de células sanguíneas, a rugosidade e remoção de tecido das superfícies radiculares, e comparar os efeitos da irradiação com a raspagem com instrumentos manuais, de forma associada ou isolada.

A análise da morfologia por Microscopia Eletrônica de Varredura das superfícies radiculares irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG em nosso estudo demonstrou que as mesmas apresentaram-se com morfologia rugosa, sem a presença de *smear layer* e de túbulos dentinários abertos, sendo que esses aspectos já foram descritos em outros estudos *in vitro* utilizando o laser de Er,Cr:YSGG (Ishizaki et al.<sup>47</sup> 2004; Harashima et al.<sup>41</sup> 2005; Jahan et al.<sup>48</sup> 2006; Ting et al.<sup>77</sup> 2007; Ekworapoj et al.<sup>22</sup> 2007; Franzen et al.<sup>32</sup> 2008; Hakki et al.<sup>40</sup> 2009). Das amostras irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de irradiação de 30°, 70% apresentaram a presença de ilhas de cimento, sendo que esse fato pode estar relacionado a menor remoção tecidual apresentada nessa angulação, estando de acordo com o estudos que utilizaram outros lasers que destacaram que irradiações executadas com baixo ângulo de trabalho produzem menores desgastes aos tecidos dentários (Folwaczny et al.<sup>27</sup> 2001; Eberhard et al.<sup>21</sup> 2003; Harashima et al.<sup>41</sup> 2005). As amostras raspadas com instrumentos manuais apresentaram-se lisas, com presença de *smear layer* e túbulos dentinários ocluídos (90%), sendo que esse padrão foi semelhante ao encontrado em outros



estudos (Israel et al.<sup>46</sup> 1997; Eberhard et al.<sup>21</sup> 2003; Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006; Abed et al.<sup>1</sup> 2007; Theodoro et al.<sup>76</sup> 2009; Hakki et al.<sup>40</sup> 2009).

Uma característica importante observada foi à ausência de trincas, condensação e carbonização nas amostras. Esse resultado está de acordo com outros estudos *in vitro* que avaliaram a morfologia das superfícies radiculares irradiadas com laser de Er:YAG (Israel et al.<sup>46</sup> 1997; Theodoro et al.<sup>74</sup> 2003; Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006; Abed et al.<sup>1</sup> 2007; Herrero et al.<sup>42</sup> 2009; Gómez et al.<sup>38</sup> 2009; Theodoro et al.<sup>76</sup> 2009) e de Er,Cr:YSGG (Ting et al.<sup>77</sup> 2007; Hakki et al.<sup>40</sup> 2009). Esse fato deve-se ao espectro do comprimento de onda da luz emitida por esses lasers serem altamente absorvidos pela água, o que promove uma alta absorção de energia luminosa pelas moléculas de água, dessa forma, existe uma grande concentração de energia em pequenas quantidades de tecido, impedindo que o calor cause danos nas porções mais profunda dos tecidos dentários. As energias fortemente concentradas nas moléculas de água fazem com que elas se evaporem rapidamente, causando microexplosões no tecido dentário. Esse processo de desgaste de tecido duro proveniente dos lasers de Er:YAG e de Er,Cr:YSGG é denominado de ablação fotomecânica. (Abed et al.<sup>1</sup> 2007; Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006; Ekworapoj et al.<sup>22</sup> 2007; Theodoro et al.<sup>76</sup> 2009; Herrero et al.<sup>42</sup> 2009). A morfologia dos tecidos dentinários irradiados com outros lasers de alta intensidade como o de Diodo, CO<sub>2</sub> e Nd:YAG apresentam danos térmicos após a irradiação (Israel et al.<sup>46</sup> 1997; Theodoro et al.<sup>74</sup> 2003; Fayad et al.<sup>24</sup> 2004; Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006; Alfredo et al.<sup>2</sup> 2009; Nomelini et al.<sup>60</sup> 2009; Gómez et al.<sup>38</sup> 2009). Essas diferenças se explicam pelo mecanismo de ablação do tecido

dentário provenientes da irradiação com esses lasers, onde o desgaste tecidual ocorre pelo aumento da temperatura de irradiação até o ponto de fusão da hidroxiapatita (1.200°C), que provoca o derretimento e a carbonização do tecido dentinário e a condensação pelo resfriamento repentino dos tecidos em estado líquido pela água da irrigação. Esse processo de desgaste é conhecido como ablação fototérmica (Theodoro et al.<sup>74</sup> 2003; Fayad et al.<sup>24</sup> 2004; Alfredo et al.<sup>2</sup> 2009; Nomelini et al.<sup>60</sup> 2009).

As amostras irradiadas com laser de Er,Cr:YSGG em todas as angulações apresentaram-se estaticamente mais rugosas que as raspadas com instrumentos manuais ( $1.91\mu\text{m}\pm 0.52$ ). As rugosidades apresentadas nas amostras irradiadas com ângulo de 90° ( $11.06\mu\text{m}\pm 2.72$ ) e 60° ( $10.23\mu\text{m}\pm 2.54$ ) com a superfície radicular apresentaram-se mais rugosas do que as amostras irradiadas com ângulo de 45° ( $8.39\mu\text{m}\pm 1.93$ ) e 30° ( $7.08\mu\text{m}\pm 1.46$ ), determinando dessa forma, que o ângulo de irradiação influenciou no grau de rugosidade, fato esse que não foi confirmado no estudo de Folwaczny et al.<sup>28</sup> (2002) que avaliou a influência do ângulo de irradiação nas superfícies radiculares irradiadas com laser de Er:YAG (15°, 30°, 45°, 60° e 90°). As rugosidades obtidas com esse laser estão acima das encontradas quanto a raspagem manual vistas em outros estudos (0.4-1.5 $\mu\text{m}$ ) (Busslinger et al.<sup>12</sup> 2001; Folwaczny et al.<sup>28</sup> 2002; Mendonça et al.<sup>57</sup> 2008; Tsuzuki et al.<sup>79</sup> 2009) e instrumentação ultrasônica (0.6-1.8 $\mu\text{m}$ ) (Busslinger et al.<sup>12</sup> 2001; Mendonça et al.<sup>57</sup> 2008; Tsuzuki et al.<sup>79</sup> 2009). O motivo da alta rugosidade pode ser explicado pela alta afinidade das moléculas de água ao comprimento de onda da luz emitida pelo laser de Er,Cr:YSGG. Em nosso estudo,

todos os testes de rugosidade foram executados na dentina previamente irradiada, e a dentina possui 3 tipos de tecido: o intertubular, o peritubular e o tubular, que possuem diferentes concentrações de água e, devido a essa característica, a interação desses tecidos com a energia luminosa do laser de Er,Cr:YSGG ocorre de forma desigual, gerando as rugosidades (Ekworapoj et al.<sup>22</sup> 2007; Franzen et al.<sup>32</sup> 2009). O estudo de Ting et al.<sup>75</sup> (2007) também encontrou valores de rugosidade bem abaixo do nosso estudo utilizando o laser de Er,Cr:YSGG (1.3µm) com os mesmos parâmetros de potência e de irrigação. Porém a angulação utilizada por estes autores foi menor (~20°), fato esse que pode explicar a diferença dos valores encontrados entre os estudos.

Os estudos de Folwaczny et al.<sup>28</sup> (2002); Mendonça et al.<sup>57</sup> (2008); Tsuzuki et al.<sup>79</sup> (2009) demonstram que as superfícies irradiadas com laser de Er:YAG apresentaram rugosidade média entre 0.32-0.81µm. Esses resultados foram inferiores aos valores de rugosidade das superfícies radiculares irradiadas com o laser de Er,Cr:YSGG em nosso estudo. Harashima et al.<sup>41</sup> (2005) relataram que as diferenças nas rugosidades entre o tecido dentinário irradiado com esses dois lasers podem estar relacionado com a temperatura inicial, pois a ablação tecidual é iniciada com temperatura mais baixa com o laser de Er:YAG (300°C), do que com o laser de Er,Cr:YSGG (800°C). Isso ocorre pois, a absorção constante de água com comprimento de onda de 2.94µm do laser de Er:YAG é mais que o dobro da absorção do laser de Er,Cr:YSGG com 2.78µm (Harashima et al.<sup>41</sup> 2005; Franzen et al.<sup>32</sup> 2009).

As rugosidades observadas nas superfícies irradiadas levantam uma questão importante para a prática clínica. Um critério utilizado para avaliar a raspagem manual é a presença de uma superfície lisa, dura e resistente após a instrumentação (Folwaczny et al.<sup>28</sup> 2002; Kocher et al.<sup>50</sup> 2001; Galli et al.<sup>36</sup> 2009), porém esse parâmetro não pode ser utilizado para se avaliar a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG. A influência da rugosidade na cicatrização nos tecidos periodontais é bem controversa (Folwaczny et al.<sup>28</sup> 2002; Ting et al.<sup>77</sup> 2007; Mendonça et al.<sup>57</sup> 2008; Casarin et al.<sup>13</sup> 2009). Vários autores apontam que as superfícies rugosas beneficiam a adesão de biofilme, servindo de nicho para a recolonização bacteriana (Folwaczny et al.<sup>28</sup> 2002; Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006; Casarin et al.<sup>13</sup> 2009; Tsuzuki et al.<sup>79</sup> 2009), sendo recomendado o polimento dessas superfícies (Folwaczny et al.<sup>28</sup> 2002). Porém esse efeito é mais evidente no meio supragengival, e dessa forma, o controle de placa supragengival impedirá a recolonização de rugosidades situadas no ambiente subgengival que estão descontaminadas (Kocher et al.<sup>50</sup> 2001). Paradoxalmente, as áreas rugosas subgengivais beneficiam a cicatrização dos tecidos periodontais por permitir a adesão de uma rede de fibrina mais estável, permitindo a migração de fibroblastos e células mesenquimais indiferenciadas que irão mediar a regeneração do periodonto de inserção (Crespi et al.<sup>18</sup> 2006; Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006).

Apesar da maior rugosidade das amostras apresentadas com o laser com os ângulos de 45° e 60°, a adesão de sangue ocorreu em grande parte das amostras irradiadas. A ausência de cálculo e de *smear layer* e a ausência de danos térmicos nas amostras irradiadas podem explicar a boa adesão de elementos sanguíneos.

Outros estudos que avaliaram a biocompatibilidade das superfícies irradiadas com laser de Er:YAG através da adesão de elementos sanguíneos (Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006) ou de fibroblastos (Fiest et al.<sup>25</sup> 2003; Crespi et al.<sup>18</sup> 2006; Galli et al.<sup>36</sup> 2009), também encontraram boa biocompatibilidade das raízes irradiadas. Estudos que avaliaram a biocompatibilidade de discos de titânio anodizados irradiados com laser de Er,Cr:YSGG e demonstrou uma boa adesão e proliferação de osteoblastos após a irradiação dessas superfícies (Schwarz et al.<sup>70</sup> 2006; Huang et al.<sup>45</sup> 2007; Lee et al.<sup>51</sup> 2008). Outros estudos que avaliaram a biocompatibilidade de superfícies radiculares irradiadas com laser de CO<sub>2</sub> (Fayad et al.<sup>24</sup> 2004), Nd:YAG (Trylovic et al.<sup>78</sup> 1992) e diodo (Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006) não apresentaram bons resultados. Israel et al.<sup>46</sup> (1997), Theodoro et al.<sup>75</sup> (2006) e Gómez et al.<sup>38</sup> (2009) sugerem que os danos térmicos ocasionados nas superfícies irradiadas por esses lasers, podem estar relacionado com a liberação de substâncias tóxicas.

As superfícies radiculares irradiadas com ângulo de 30° e 90° não apresentaram uma boa adesão de elementos sanguíneos. A baixa remoção de tecido com o ângulo de 30° pode explicar o motivo desse pobre resultado nas amostras irradiadas, pois as raízes utilizadas nesse estudo foram extraídas de portadores da doença periodontal e provavelmente as toxinas bacterianas incrustadas no cimento impediram a adesão dos elementos sanguíneos. Eberhard et al.<sup>21</sup> (2003) avaliaram a eficiência de remoção de cálculo dentário *in situ* com o laser de Er:YAG com ângulo de irradiação de 20°, os resultados demonstraram que as amostras irradiadas necessitavam do dobro de tempo da raspagem manual

para conseguir a remoção de cálculos dentários, e apresentaram maior porcentagem de cimento recobrimo as raízes comparando as regiões raspadas com instrumentos manuais. O ângulo de irradiação de 90°, foi o que provocou a maior remoção tecidual, com maiores rugosidades e com ausência de calculo e de *smear layer*, porém o resultado de adesão de elementos sanguíneos foi pior que os resultados encontrados com outras angulações (45° e 60°). Folwaczny et al.<sup>29</sup> (2003) avaliaram as características de raízes irradiadas com laser de Er:YAG utilizando de cortes histológicos visualizados em microscopia óptica e verificaram que a ocorrência de dois tipos de danos térmicos: uma camada superficial mais fina e escura aparentemente constituía de tecido desnaturado, e uma camada semicircular mais profunda corada mais fortemente pela hematoxilina, formada devido a degradação das proteínas dentinárias causada por danos térmicos. A ocorrência desses danos térmicos foram vistas nos estudos histológicos de Frentzen et al.<sup>34</sup> (2002) e Crespi et al.<sup>17</sup> (2005), porém não foi confirmado por Crespi et al.<sup>18</sup> (2006). O aumento do ângulo de irradiação aumenta a densidade de energia que incide sobre os tecidos (Folwaczny et al.<sup>27</sup> 2001) e a densidade de energia está relacionada com o aumento da ablação e de danos térmicos as superfícies radiculares (Gasparic et al.<sup>37</sup> 2001), e dessa forma é provável que o ângulo de 90° tenha causado maiores alterações térmicas, com a degradação das substâncias orgânicas na matriz do tecido dentinário, com a formação de produtos tóxicos, como o cianeto e a cianamida (Israel et al.<sup>46</sup> 1997; Crespi et al.<sup>16</sup> 2005; Theodoro et al.<sup>75</sup> 2006) que, conseqüentemente, prejudicou a adesão de elementos sanguíneos as superfície radiculares irradiadas com esse ângulo de trabalho.

Analisando os resultados do estudo quanto à adesão de elementos sanguíneos comparando o grupo tratado com laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de trabalho de 45°, de forma isolada ou associada a raspagem manual, com o grupo que sofreu apenas raspagem manual, foi verificado que não houve diferenças estatísticas. Apesar disso, pode-se observar que o grupo onde foi utilizado o laser apresentou amostras sem adesão de elementos sanguíneos (20%), fato que não ocorreu no grupo onde apenas a raspagem com instrumento manual foi utilizada. Esse resultado é semelhante aos resultados do estudo de Theodoro et al.<sup>75</sup> (2006) que comparou a adesão de elementos sanguíneos em amostras irradiadas com o laser de Er:YAG com amostras que foram raspadas com instrumentos manuais. Esses resultados podem explicar os resultados de um estudo piloto em humanos que avaliou a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG como tratamento adjunto a raspagem e alisamento radicular com instrumentos manuais em pacientes com doença periodontal moderada (Kelbauskiene et al.<sup>49</sup> 2007). Os resultados obtidos pelos autores demonstraram que o tratamento com a raspagem manual executado de forma isolada e o tratamento combinado a irradiação com o laser foram eficientes na melhora dos parâmetros clínicos da doença periodontal, com certa vantagem ao tratamento combinado devido ao maior ganho de inserção clínica, após a terapia. O efeito do tratamento periodontal isolado com o laser de Er,Cr:YSGG em humanos não foi avaliado até o presente momento.

O ângulo de irradiação influenciou a quantidade de tecido removido durante a irradiação com o laser de Er,Cr:YSGG em nosso estudo, confirmando os achados de Folwaczny et al.<sup>27</sup> (2001) que avaliaram a influencia do ângulo de

irradiação do laser de Er:YAG na remoção de tecido das superfícies radiculares. O desgaste tecidual observado com a angulação de irradiação de 30° foi menor estatisticamente ( $113.37\mu\text{m}\pm 32.94$ ) que todos os outros ângulos de irradiação avaliados (45°- $177.60\mu\text{m}\pm 26.89$ ; 60°- $185.33\mu\text{m}\pm 16.54$ ; 90°- $191.32\mu\text{m}\pm 12.38$ ), e foi menor também que o desgaste promovido pela raspagem manual ( $169.83\mu\text{m}\pm 24.76$ ). O desgaste ocorreu de maneira diretamente proporcional ao ângulo de radiação, porém não houve diferenças estatisticamente significativas entre o desgaste promovido com os ângulos de irradiação de 45°, 60° e 90° entre si, e entre eles e a raspagem manual. A quantidade de tecido necessária a ser removida durante o tratamento da doença periodontal para promover uma superfície compatível com a cicatrização não está determinada (Folwaczny et al.<sup>26</sup> 2000; Folwaczny et al.<sup>27</sup> 2001; Crespi et al.<sup>17</sup> 2005). As diferentes fases da terapia periodontal necessitam de diferentes abordagens. Na fase do tratamento periodontal não-cirúrgico, onde ocorre a maior presença de depósitos calcificados aderidos a superfície radicular, se faz necessário uma raspagem manual mais vigorosa com o deslocamento de porções de cálculo, seguido do aplainamento radicular (Folwaczny et al.<sup>27</sup> 2001; Eberhard et al.<sup>21</sup> 2003). Na fase da terapia periodontal de suporte, a força da raspagem executada é menor, devido a menor presença de depósitos calcificados e para evitar danos excessivos a superfície radicular (Eberhard et al.<sup>21</sup> 2003; Crespi et al.<sup>18</sup> 2006). Os resultados desse estudo indicam a possibilidade de se utilizar o laser de Er,Cr:YSGG com ângulo de irradiação de 30° para a terapia periodontal de suporte, devido ao menor desgaste observado nessa angulação, e angulações maiores que 30° e menores que 60° para



a instrumentação durante a fase inicial do tratamento periodontal, como terapia principal ou associada a raspagem.

## **Conclusão**

Diante dos resultados obtidos e levando em consideração a metodologia utilizada, podemos concluir que:

- 1) A irradiação com laser de Er,Cr:YSGG promoveu uma maior rugosidade nas superfícies radiculares em relação ao tratamento de raspagem e alisamento radicular, porém esse fato não interferiu negativamente na adesão de elementos sanguíneos em relação ao tratamento.
- 2) O ângulo de irradiação do laser de Er,Cr:YSGG influenciou os valores de rugosidade e desgaste dos tecidos dentários, sendo que essa relação foi diretamente proporcional.
- 3) O ângulo de irradiação de 30° foi o que promoveu os menores desgastes da superfície radicular em comparação a raspagem.
- 4) A utilização do laser de Er,Cr:YSGG nos ângulos de 45° e 60° proporcionaram os melhores resultados de adesão de células sanguíneas.

## **Referências\***

1. Abed AM, Tawakkoli M, Dehchenari MA, Gutknecht N, Mir M. A comparative SEM study between hand instrument and Er:YAG laser caling and root planing. *Lasers Med Sci.* 2007; 22: 25-9.
2. Alfredo E, Souza-Gabriel AE, Silva SRC, Sousa-Neto MD, Brugnera Jr A, Silva-Sousa YTC. Morphological alterations of radicular dentine pretreated with different irrigating solutions and irradiated with 980-nm diode laser. *Microsc Res Tech.* 2009; 72: 22-7.
3. Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJH, Oshiiwa M, Garcia VG. In vivo effect of photodynamic therapy on periodontal bone loss in dental furcations. *J Periodontol.* 2008; 79: 1081-8.
4. Altundasar E, Özçelik B, Cehreli ZC, Matsumoto, K. Ultramorphological and histochemical changes after Er,Cr:YSGG laser irradiation and two different irrigation regimes. *J Endod.* 2006; 32: 465–8.
5. American Academy of Periodontology. Lasers in periodontics. *J Periodontol.* 2002; 73: 1231-9.

---

\*De acordo com o estilo Vancouver. Disponível no site:

[http://www.nlm.nih.gov/bsd/unifom\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/unifom_requirements.html)

6. Andrade AKP, Feist IS, Pannuti CM, Cai S, Zezell DM, De Micheli G. Nd:YAG laser clinical assisted in class II furcation treatment. *Lasers Med Sci.* 2008; 23: 341-7.
7. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I. Lasers in non surgical periodontal therapy. *Periodontol 2000.* 2004; 36: 59-97.
8. Aranha ACC, Domingues FB, Franco VO, Gutknecht N, Eduardo CP. Effects of Er:YAG and Nd:YAG lasers on dentin permeability in root surfaces: A preliminary in vitro study. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23: 504-8.
9. Azzeh MM. Er,Cr:YSGG laser-assisted surgical treatment of peri-implantitis with 1-year reentry and 18-month follow-up. *J Periodontol.* 2008; 79: 2000-5.
10. Botta SB, Da Ana PA, Zezell DM, Powers JM, Mattos AB. Adhesion after erbium, chromium: yttrium-scandium-gallium garnet laser application at three different irradiation conditions. *Lasers Med Sci.* 2004; 24: 67-73.
11. Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy: A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 877-84.
12. Busslinger A, Lampe K, Beuchat M, Lehmann B. A comparative in vitro study of a magnetostrictive and a piezoelectric ultrasonic scaling instrument. *J Clin Periodontol.* 2001; 28: 642-9.

13. Casarin RCV, Ribeiro FV, Sallum AW, Sallum EA, Nociti-Jr FH, Casati MZ. Root surface defect produced by hand instruments and ultrasonic scaler with different power settings: An in vitro study. *Braz Dent J.* 2009; 20: 58-63.
14. Çalışkan MK, Parlar NK ,Oruçoğlu H, Aydın B. Apical microleakage of root-end cavities prepared by Er, Cr: YSGG laser. *Lasers Med Sci .* 2010; 25: 145–50.
15. Chou JC, Chen CC, Ding SJ. Effect of Er,Cr:YSGG laser parameters on shear bond strength and microstructure of dentine. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27: 481-6.
16. Crespi R, Barone A, Covani U. Histologic evaluation of three methods of periodontal root surface treatment in humans. *J Periodontol.* 2005; 76: 476-81.
17. Crespi R, Romanos GE, Barone A, Sculean A, Covani U. Er:YAG laser in defocused mode for scaling of periodontally involved root surfaces: An in vitro pilot study. *J Periodontol.* 2005; 76: 686-90.
18. Crespi R, Barone A, Covani U. Er:YAG laser scaling of diseased root surfaces: A histologic study. *J Periodontol.* 2006; 77: 218-22.
19. Crespi R, Capparé P, Toscanelli I, Gherlone E, Romanos G. Effects of Er:YAG laser compared to ultrasonic scaler in periodontal treatment: A 2-year follow-up split-mouth clinical study. *J Periodontol.* 2007; 78: 1195-200.

20. Cristidoulides N, Nikolidakis D, Chondros P, Becker J, Schwarz F, Rossler R, et al. Photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: A randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2008; 79: 1638-44.
21. Eberhard J, Ehlers H, Falk W, Açil Y, Albers H-K, Jepsen S. Efficacy of subgingival calculus removal with Er:YAG laser compared to mechanical debridement: an in situ study. *J. Clin Periodontol.* 2003; 30: 511–8.
22. Ekworapoj P, Sidhu SK, McCabe JF. Effect of different power parameters of Er-Cr:YSGG on human dentine. *Lasers Med Sci.* 2007; 22: 175-82.
23. Eversole LR, Rizioiu I, Kimmel AI. Pulpal response to cavity preparation by an erbium, chromium:YSGG laser-powered hydrokinetic system. *J Am Dent Assoc.* 1997; 128: 1099-106.
24. Fayad MI, Hawkinson R, Daniel J, Hao J. The effect of CO<sub>2</sub> laser irradiation on pdl cell attachment to resected root surfaces. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004; 97: 518-23.
25. Feist IS, De Micheli G, Carneiro SR, Eduardo CP, Miyagi S, Marques MM. Adhesion and growth of cultured human gingival fibroblasts on periodontally involved root surfaces treated by Er:YAG laser. *J Periodontol* 2003; 74: 1368–75.

26. Folwaczny M, Mehl A, Haffner C, Benz C, Hickel R. Root substance removal with Er: YAG laser radiation at different working parameters using a new developed delivery system. *J Periodontol.* 2000; 71: 147–55.
27. Folwaczny M, Thiele L, Mehl A, Hickel R. The effect of working tip angulation on root substance removal using Er: YAG laser radiation: an in vitro study. *J Clin Periodontol.* 2001; 28: 220–6.
28. Folwaczny M, George G, Thiele L, Mehl A, Hickel R. Root surface roughness following Er:YAG laser irradiation at different radiation energies and working tip angulations. *J Clin Periodontol.* 2002; 29: 598–603.
29. Folwaczny M, Benner ku, Flasskamp B, Mehl A, Hickel R. Effects of 2.94 $\mu$ m Er:YAG laser radiation on root surfaces treated in situ: A histological study. *J Periodontol.* 2003; 74: 360-5.
30. Food and Drug Administration. 510(k). Summary of Safety and Effectiveness Information: Waterlase Millennium, surgical laser instrument. [citado em 2001 jul 3]. Disponível em: <http://www.fda.gov/cdrh/pdf/k011041.pdf>
31. Food and Drug Administration. 510(k). Summary of Safety and Effectiveness Information: Waterlase Millennium, hydrokinetic tissue cutting system. [citado em 2002 fev 12]. Disponível em: <http://www.fda.gov/cdrh/pdf/k013908.pdf>.

32. Franzen R, Esteves-Oliveira M, Meister J, Wallerang A, Vanweersch L, Lampert F, et al. Decontamination of deep dentin by means of erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser irradiation. *Lasers Med Sci.* 2009; 24: 75-80.
33. Freitas PM, Soares-Geraldo D, Biella-Silva AC, Silva AV, Silveira BL, Eduardo CP. Intrapulpar temperature variation during Er,Cr:YSGG enamel irradiation on caries prevention. *J Appl Oral Sci.* 2008; 16: 95-9.
34. Frentzen M, Braun A, Aniol D. Er:YAG laser scaling of diseased root surfaces. *J Periodontol.* 2002; 73: 524-30.
35. Galli C, Passeri G, Cacchioli A, Gualini G, Ravanetti F, Elezi E, et al. Effect of laser-induced dentin modifications on periodontal fibroblasts and osteoblasts: A new in vitro model. *J Periodontol.* 2009; 80: 1648-54.
36. Garcia VG, Fernandes LA, Almeida JM, Bosco AF, Nagata MJH, Martins TM, et al. Comparison between laser therapy and non-surgical therapy for periodontitis in rats treated with dexamethasone. *Lasers Med Sci.* 2009 May 14.[Epub ahead of print].
37. Gaspirc B, Skaleric U. Morphology, chemical structure and diffusion processes of root surface after Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation. *J Clin Periodontol.* 2001; 28: 508-16.



38. Gómez C, Bisheimer M, Costela A, García-Moreno I, García A, García JA. Evaluation of the effects of Er:YAG and Nd:YAG lasers and ultrasonic instrumentation on root surfaces. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27: 43-48.
39. Gutknecht N, Apel C, Schafer C, Lampert F. Microleakage of composite fillings in Er,Cr:YSGG laser-prepared class II cavities. *Lasers Surg Med.* 2001; 28: 371-4.
40. Hakki SS, Berk G, Dundar N, Saglam M, Berk N. Effects of root planing procedures with hand instrument or erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser irradiation on the root surfaces: a comparative scanning electron microscopy study. *Lasers Med Sci.* 2009 Feb 14. [Epub ahead of print].
41. Harashima T, Kinoshita JI, Kimura Y, Brugnera Jr A, Zanin F, Pecora JD, et al. Morphological comparative study on ablation of dental hard tissues at cavity preparation by Er:YAG and Er,Cr:YSGG lasers. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23: 52-5.
42. Herrero A, García-Kass AI, Gómez C, Sanz M, García-Núñez JA. Effect of two kinds of Er:YAG laser systems on root surface in comparison to ultrasonic scaling: An in vitro study. *Photomed Laser Surg.* 2009 Oct 27. [Epub ahead of print].
43. Hossain M, Nakamura Y, Yamada Y, Suzuki N, Murakami Y, Matsumoto K. Analysis of surface roughness of enamel and dentin after Er,Cr:YSGG laser irradiation. *J Clin Laser Med Surg.* 2001; 19: 297-303.

44. Hossain M, Nakamura Y, Tamaki Y, Yamada Y, Murakami Y, Matsumoto K. Atomic analysis and knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation in vitro. *J Oral Rehabi.* 2003; 30: 515–21.
45. Huang HH, Chuang YC, Chen ZH, Lee TL, Chen CC. Improving the initial biocompatibility of a titanium surface using an Er,Cr:YSGG laser-powered hydrokinetic system. *Dent Mat.* 2007; 23: 410–4.
46. Israel M, Cobb CM, Rossmann JA, Spencer P. The effects of CO<sub>2</sub>, Nd:YAG and Er:YAG lasers with or without surface coolant on tooth root surfaces : an in vitro study. *J Clin Periodontol.* 1997; 24: 595-602.
47. Ishizaki NT, Matsumoto K, Kimura Y, Wang X, Kinoshita JI, Okano S, et al. Thermographical and morphological studies of Er,Cr:YSGG laser irradiation on root canal walls. *Photomed Laser Surg.* 2004; 22: 291-7.
48. Jahan KMR, Hossain M, Nakamura Y, Yoshishige Y, Kinoshita JI, Matsumoto K. An assessment following root canal preparation by Er,Cr:YSGG laser irradiation in straight and curved roots, in vitro. *Lasers Med Sci.* 2006; 21: 229-34.
49. Kelbauskiene S, Maciulskiene V. A pilot study of Er,Cr;YSGG laser therapy used as an adjunct to scaling and root planing in patients with early and moderate Periodontitis. *Stomatologija.* 2007; 9: 21-6.

50. Kocher T, Rosin M, Langenbeck N, Bernhardt O. Subgingival polishing with a Teflon-coated sonic scaler insert in comparison to conventional instruments as assessed on extracted teeth. (II) Subgingival roughness. *J Clin Periodontol.* 2001; 28: 723-9.
51. Lee JH, Heo SJ, Koak JY, Kim SK, Lee SJ, Lee SH. Cellular responses on anodized titanium discs after laser irradiation. *Lasers Surg Med.* 2008; 40: 738-42.
52. Lopes BMV, Marcantonio RAC, Thompson GMA, Neves LHM, Theodoro LH. Short-term clinical and immunologic effects of scaling and root planing with Er:YAG laser in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2008; 79: 1158-67.
53. Masuda YM, Hossain M, Wang X, Matsuoka E, Okano T, Matsumoto K. Effect of Er,Cr:YSGG laser irradiation on eruption of rat mandibular incisor after disturbance of the enamel organ in the pulp. *Lasers Med Sci.* 2006; 21: 165-9.
54. Maiman, TH. Stimulated optical radiation in ruby. *Nature.* 1960; 187: 493-4.
55. Matsuoka E, Jayawardena JA, Matsumoto K. Morphological study of the Er,Cr:YSGG for root canal preparation in mandibular incisors with curved root canals. *Photomed Laser Surg.* 2005; 23: 480-4.
56. Meister J, Franzen R, Forner K, Grebe H. Influence of the water content in enamel and dentin on ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed Opt.* 2006; 11: 1-7.

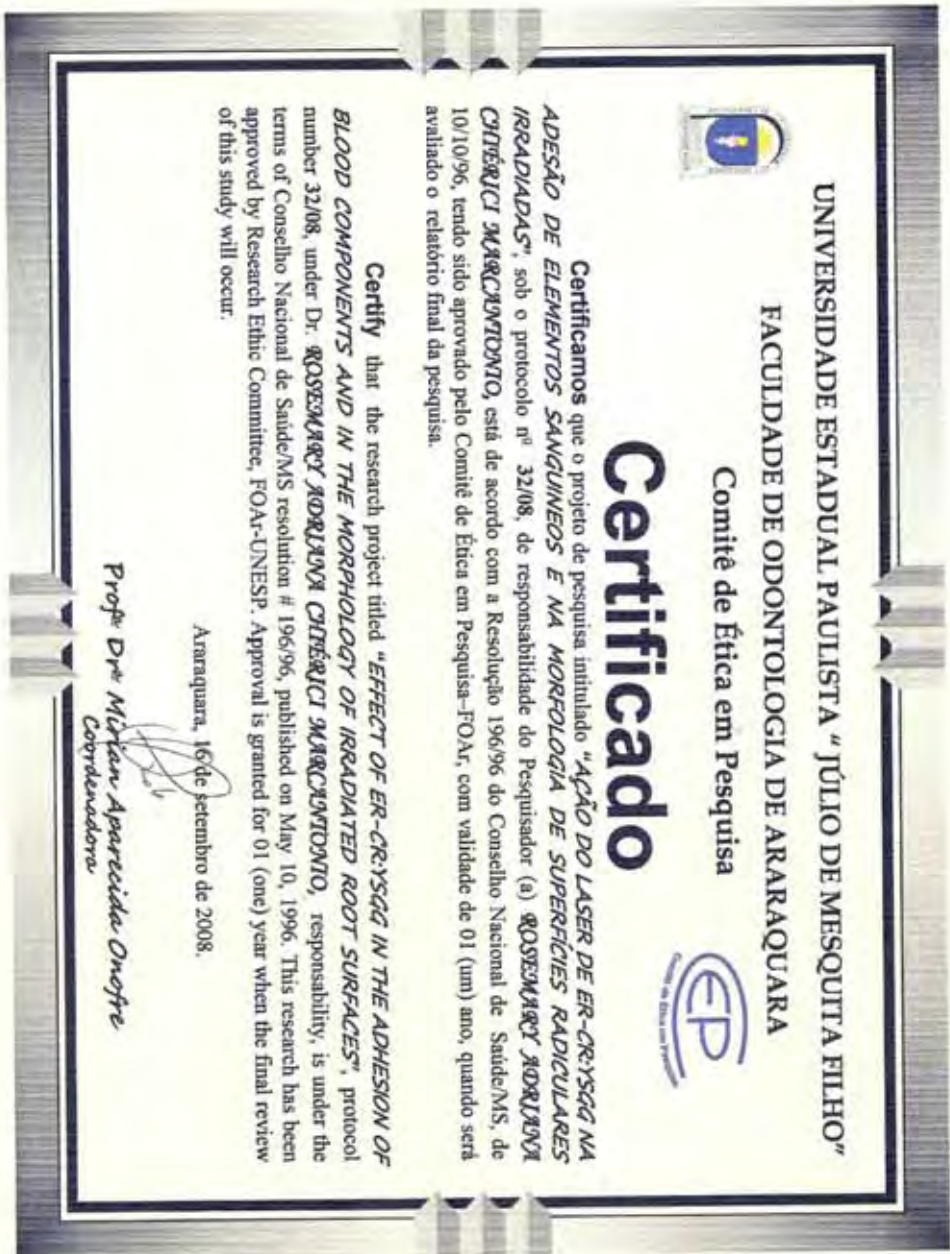
57. Mendonça AC, Máximo MB, Rodrigues JA, Arrais CAG, Freitas PM, Duarte PM. Er:YAG laser, ultrasonic system and curette produce different profiles on dentine root surfaces: An *in vitro* study. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26: 91-97.
58. Mir M, Gutknecht N, Poprawe R, Vanweersch L, Lampert F. Visualising the procedures in the influence of water on the ablation of dental hard tissue with erbium:yttrium-aluminium-garnet and erbium,chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser pulses. *Lasers Med Sci.* 2009; 24: 365-74.
59. Murayama H, Aoki A, Sasaki KM, Takasaki AA, Iwasaki K, Ichinose S, et al. The effect of chemical and/or mechanical conditioning on the Er:YAG laser-treated root cementum: Analysis of surface morphology and periodontal ligament fibroblast attachment. *Lasers Surg Med.* 2008; 40: 211-22.
60. Nomelini SMB, Souza-Gabriel AE, Marchesan MA, Sousa-Neto MD, Silva-Sousa YTC. Ultrastructural analysis of radicular dentine surface submitted to CO<sub>2</sub> laser at different parameters. *Microsc Res Tech.* 2009; 72: 737-43.
61. Noori ZT, Fekrazad R, Eslami B, Etemadi A, Khosravi S, Mir M. Comparing the effects of root surface scaling with ultrasound instruments and Er,Cr:YSGG laser. *Lasers Med Sci.* 2008; 23: 283-7.
62. Obeide A, Liu PR, Ramp LC, Beck P, Gutknecht N. Acid-etch interval and shear bond strength of Er,Cr:YSGG laser-prepared enamel and dentin. *Lasers Med Sci.* 2009 Mar 14. [Epub ahead of print].

63. Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes Jr AB, Garlet GP, Souza RF, Taba Jr M, et al. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive Periodontitis: Cytokine profile in gingival crevicular fluid, preliminary results. *J Periodontol.* 2009; 80: 98-105.
64. Pejčić A, Kojović D, Kesic L, Obradović R. The effects of low level laser irradiation on gingival inflammation. *Photomed Laser Surg.* Nov 22. [Epub ahead of print].
65. Polimeni G, Susin C, Wikesjö UME. Regenerative potential and healing dynamics of the periodontium: a critical-size supra-alveolar periodontal defect study. *J Clin Periodontol.* 2009; 36: 258–64.
66. Schoop U, Goharkhay K, Klimscha J, Zagler M, Wernisch J, Georgopoulos A, et al. The use of the erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet laser in endodontic treatment: The results of an in vitro study. *J Am Dent Assoc.* 2007; 138: 949-55.
67. Schwarz G, Sculean A, Georg T, Reich E. Periodontal treatment with an Er:YAG laser compared to scaling and root planing. A controlled clinical trial. *J Periodontol.* 2001; 72: 361-7.
68. Schwarz G, Sculean A, Berakdar M, Georg T, Reich E, Becker J. Periodontal treatment with an Er:YAG laser or scaling and root planing. A 2-year follow – up split-mouth study. *J Periodontol.* 2003; 74: 590-6.

69. Schwarz G, Sculean A, Berakdar M, Georg T, Reich E, Becker J. Clinical evaluation of an Er:YAG laser combined with scaling and root planning for non-surgical periodontal treatment. A controlled, prospective clinical study. *J Clin Periodontol.* 2003; 30: 26-34.
70. Schwarz F, Nuesry E, Bieling K, Hertel M, Becker J. Influence of an Erbium, Chromium-Doped Yttrium, Scandium, Gallium, and Garnet (Er,Cr:YSGG) Laser on the reestablishment of the biocompatibility of contaminated titanium implant surfaces. *J Periodontol.* 2006; 77: 1820-7.
71. Silva ACB, Guglielmi C, Meneguzzo DT, Aranha ACC, Bombana AC, Eduardo CP. Analysis of permeability and morphology of root canal dentin after Er,Cr:YSGG laser irradiation. *Photomed Laser Surg.* 2009. [Epub ahead of print].
72. Soares FM, Tarver EJ, Bimstein E, Shadoux LM, Bhattacharvya I. Gingival overgrowth in a child with arthrogyrosis treated with an Er,Cr:YSGG laser: A case report. *Pediatric Dent.* 2009; 31: 8-13.
73. Stern RH, Sognaes RF. Laser effect on dental hard tissues. A preliminary report. *J South Calif Dent Assoc.* 1965; 33: 17-9.
74. Theodoro LH, Haypek P, Bachmann L, Garcia VG, Sampaio JEC, Zezell DM, et al. Effect of Er:YAG and diode laser irradiation on the root surface. Morphological and thermal analysis. *J Periodontol.* 2003; 74: 838-43.

75. Theodoro LH, Sampaio JEC, Haypek P, Bachmann L, Zezell DM, Garcia VG. Effect of Er:YAG and diode lasers on the adhesion of blood components and on the morphology of irradiated root surfaces. *J Periodont Res.* 2006; 41: 381–90.
76. Theodoro LH, Zezell DM, Garcia VG, Haypek P, Nagata JH, Almeida JM, et al. Comparative analysis of root surface smear layer removal by different etching modalities or erbium:yttrium-aluminum-garnet laser irradiation. A scanning electron microscopy study. *Lasers Med Sci.* 2009 Mar 28. [Epub ahead of print].
77. Ting CC, Fukuda M, Watanabe T, Aoki T, Sanaoka A, Noguchi T. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation on the root surface: morphologic analysis and efficiency of calculus removal. *J Periodontol.* 2007; 78: 2156-64.
78. Trylovich DJ, Cobb CM, Pippin DJ, Spencer P, Killoy WJ. The effects of the Nd:YAG laser on in vitro fibroblast attachment to endotoxin-treated root surfaces. *J Periodontol.* 1992; 63: 626-32.
79. Tsuzuki CO, Martins FL, Giorgetti APO, Freitas PM, Duarte PM. In vitro adhesion of *Streptococcus sanguinis* to dentin root surface after treatment with Er:YAG laser, ultrasonic system, or manual curette. *Photomed Laser Surg.* 2009; 27: 735-41.
80. Wikesjo UME, Nilvéus RE, Selvig KN. Significance of early healing events on periodontal repair: a review. *J. Periodontol.* 1992; 63: 158-65.

# ANEXO 1





## ANEXO 2

### Termo de consentimento Livre e esclarecido

#### **AÇÃO DO LASER DE ER-CR:YSGG NA ADESÃO DE ELEMENTOS SANGUÍNEOS E NA MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIES RADICULARES IRRADIADAS**

Dados do voluntário:

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ RG: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Nº do Prontuário: \_\_\_\_\_

- 1) Fui informado que o objetivo dessa pesquisa é de avaliar a influência do laser de ER-CR:YSGG sobre as superfícies radiculares irradiadas quanto à morfologia de suas superfícies e a adesão de elementos sanguíneos, por meio dos dentes extraídos. Fui esclarecido que, para isso, serão selecionados homens e mulheres, que necessitem extrair seus dentes por motivo de Doença Periodontal Avançada, para a realização da pesquisa.
- 2) Após ter lido e assinado o anexo que segue junto, eu autorizo a doação dos meu(s) dente(s), que serão extraídos na Clínica de Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araraquara, para a realização deste trabalho citado acima, bem como para a divulgação e publicação em revistas científicas, brasileiras ou estrangeiras, dos dados obtidos na pesquisa. Recebi a garantia de sigilo de minha identidade, assegurando a minha privacidade.
- 3) Os conhecimentos adquiridos, com o presente estudo, serão importantes, futuramente, para a criação de novos tratamentos que visarão à regeneração de tecidos que foram perdidos devido à progressão das doenças periodontais. É importante ressaltar que qualquer dúvida a respeito do estudo será esclarecida pelo pesquisador responsável.
- 4) O risco relacionado com a extração dos dentes será minimizado ao máximo, pois elas serão realizadas por cirurgiões-dentistas experientes e também serão seguidas normas rígidas de biossegurança. Os professores responsáveis pela disciplina de cirurgia deixaram claro que irão dar atenção total tanto durante como também após a extração de meus dentes, acompanhando todo o processo de recuperação e minimizando os possíveis incômodos pós-operatórios.

- 5) Fui esclarecido que tenho plena liberdade para desistir da referida pesquisa, retirando o meu consentimento a qualquer momento, sem sofrer nenhum tipo de penalização, e que tenho plena liberdade de contactar o pesquisador responsável.
- 6) Desta forma, uma vez tendo lido e entendido tais esclarecimentos e, por estar de pleno acordo com o que está escrito acima, dato e assino esse Termo de Consentimento.

Qualquer sugestão, informação adicional, problemas, dúvidas ou reclamações, ligue para nós:

- Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira (16) 81329545

- Comitê de Ética em Pesquisa: (16) 201 6432/6434.

Por esse instrumento particular, declaro, para fins de Ética e Legislação em Pesquisa, que eu, \_\_\_\_\_

Nascido (a) em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_, portador do RG \_\_\_\_\_, residente à

\_\_\_\_\_, Bairro \_\_\_\_\_,

cidade \_\_\_\_\_, estado \_\_\_\_\_, que eu li e entendi as informações acima

citadas e concordo em participar da pesquisa "AÇÃO DO LASER DE ER-CR:YSGG NA ADESÃO DE ELEMENTOS SANGUINEOS E NA MORFOLOGIA DE SUPERFICIES RADICULARES IRRADIADAS", doando os dentes que forem extraídos devido a doença periodontal irreversível.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 200\_

Assinatura do voluntário : \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

### ANEXO 3

#### Termo de consentimento Livre e esclarecido

#### **AÇÃO DO LASER DE ER-CR:YSGG NA ADESÃO DE ELEMENTOS SANGUINEOS E NA MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIES RADICULARES IRRADIADAS**

Dados do voluntário:

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ RG: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Nº do Prontuário: \_\_\_\_\_

- 1) Esta pesquisa tem o objetivo de avaliar a influência do laser de YSSG sobre as superfícies radiculares irradiadas quanto à morfologia de suas superfícies e a adesão de elementos sanguíneos. No caso do teste de adesão de elementos sanguíneos, será necessária a utilização de uma pequena quantidade de sangue que será doada por você, caso aceite os argumentos que serão explicados nesse termo
- 2) Desconfortos no local da coleta, como dor e hematomas, poderão ocorrer. Esse risco será minimizado, pois a coleta será feita por profissionais qualificados, na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unesp de Araraquara e informações sobre como minimizar os desconfortos pós-coleta serão informados. A quantidade de sangue a ser coletada não é suficiente para causar qualquer efeito adverso adicional, como tonturas ou desmaios.
- 3) O Sangue coletado será analisado para verificar a existência de doenças infecto contagiosas ou desordens nas suas células através do hemograma. Caso existe alguma anormalidade, você será encaminhado para o serviço de saúde que estiver necessitando. O benefício de se conhecer esses resultados não acarretará custos a você.
- 4) Os conhecimentos adquiridos, com o presente estudo, serão importantes, futuramente, para a criação de novos tratamentos que visarão à regeneração de tecidos que foram perdidos devido à progressão das doenças periodontais. É importante ressaltar que qualquer dúvida a respeito do estudo será esclarecida pelo pesquisador responsável.
- 5) Os resultados obtidos nesta pesquisa, independente de corresponderem aos esperados, serão utilizados para fins didáticos e de divulgação em revistas científicas nacionais ou estrangeiras; porém, será garantido o sigilo de sua identidade, assegurando a sua privacidade.

Qualquer sugestão, informação adicional, problemas, dúvidas ou reclamações, ligue para nós:

- Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira (16) 81329545
- Comitê de Ética em Pesquisa: (16) 201 6432/6434.

Por esse instrumento particular, declaro, para fins de Ética e Legislação em Pesquisa, que eu, \_\_\_\_\_  
Nascido (a) em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_\_, portador do RG \_\_\_\_\_, residente à \_\_\_\_\_, Bairro \_\_\_\_\_, cidade \_\_\_\_\_, estado \_\_\_\_\_, que eu li e entendi as informações acima citadas e concordo em participar da pesquisa **“AÇÃO DO LASER DE ER-CR:YSGG NA ADESÃO DE ELEMENTOS SANGUINEOS E NA MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIES RADICULARES IRRADIADAS”**, para doação de sangue.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 200\_

Assinatura do voluntário : \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

## ANEXO 4



## ANEXO 5

### **PNc255** Utilização do laser de Er-Cr:YSGG para raspagem radicular. Estudo in vitro

Oliveira GJPL\*, Sampaio JEC, Marcantonio RAC

Diagnóstico e Cirurgia - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - ARARAQUARA.

E-mail: guiloliveiraodonto@hotmail.com

**E**ste estudo "in vitro" avaliou a influência do laser de Er-Cr:YSGG (erbium, chromium:yttrium-scandium-gallium-garnet) sobre superfícies radiculares quanto à morfologia e a adesão de elementos sanguíneos. Foram utilizados 15 dentes. Para cada dente foram obtidas 4 amostras, totalizando 60 amostras. Estas foram divididas em 3 grupos (20 amostras cada), de acordo com os tratamentos: Grupo 1(G1): raspagem e alisamento radicular com instrumentos manuais; Grupo 2(G2): aplicação do laser de Er-Cr:YSGG (150mJ de energia e 1.0W de potência); Grupo 3(G3): tratamento combinado com raspagem radicular e aplicação com do laser de Er-Cr:YSGG. Para cada grupo, 10 amostras receberam 1 gota de sangue, para avaliação da adesão de elementos sanguíneos, e em 10 avaliou-se a morfologia da superfície radicular. As fotomicrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura foram analisadas por um único examinador (calibrado e cego) que utilizou os índices de: adesão de elementos sanguíneos e morfologia radicular. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente (Testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney). A análise da adesão de elementos sanguíneos não demonstrou diferenças estatísticas entre os grupos ( $p=0.359$ ). A análise morfológica demonstrou que as superfícies radiculares irradiadas com o laser de Er-Cr:YSGG apresentaram maior rugosidade quando comparadas ao grupo raspagem (G2-G1:  $p=0.0003$  e G3-G1:  $p=0.0003$ ).

*A maior rugosidade das superfícies radiculares irradiadas com laser de Er-Cr:YSGG não interferiu negativamente na adesão de elementos sanguíneos. (Apoio: CAPES)*

## ANEXO 6

**From:** jchapman@liebertpub.com  
**To:** [adriana@foar.unesp.br](mailto:adriana@foar.unesp.br)  
**CC:**  
**Subject:** Photomedicine and Laser Surgery - Decision on Manuscript ID PHO-2009-2681.R1  
**Body:** 24-Nov-2009

Dear Dr. Marcantonio:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation on root surfaces for adhesion of blood components and morphology" in its current form for publication in Photomedicine and Laser Surgery. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

The Copyright Agreement form attached to this email should be sent to the publisher as soon as possible. Manuscripts cannot be published without this form. The corresponding author is responsible for obtaining signatures of coauthors. Authors not permitted to release copyright must still return the form signed under the statement of the reason for not releasing the copyright.

Please fax the Copyright Agreement form to 914-740-2101.

If preferred, the form may be filled out electronically and submitted via email to [copyrightforms@liebertpub.com](mailto:copyrightforms@liebertpub.com).

Authors who would like their papers to be made free online immediately after publication can sign up for Liebert Open Option for a one-time fee. If the paper has NIH funding, it will also be uploaded onto PubMedCentral on behalf of the author. Please contact Karen Ballen at [kballen@liebertpub.com](mailto:kballen@liebertpub.com) or at (914) 740-2194 for more information.

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of Photomedicine and Laser Surgery, we look forward to

your continued contributions to the Journal.

Sincerely,  
Dr. Raymond Lanzafame  
Editorial Office, Photomedicine and Laser Surgery  
jchapman@liebertpub.com



Autorizo a reprodução deste trabalho.

(Direitos de publicação reservado ao autor)

Araraquara, 29 de Março de 2010

Guilherme José Pimentel Lopes de Oliveira